Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
Fleischhygiene und -technologie
— Fachrichtung Fleischhygiene —
des Fachbereiches Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

Darstellung des Proteinmusters der Muskulatur von Haus- und Wildtieren mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung auf Polyacrylamidgelen (PAGIF) unter den Gesichtspunkten der Reifung und der Probenauswahl der Muskulatur sowie des Alters und der Haltung der Tiere

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Naujok
Tierarzt aus Mönchengladbach

Berlin 1985
Journal-Nr. 1255

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
Fleischhygiene und -technologie
- Fachrichtung Fleischhygiene -
des Fachbereiches Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

Darstellung des Proteinmusters der Muskulatur von Haus- und Wildtieren mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung auf Polyacrylamidgelen (PAGIF) unter den Gesichtspunkten der Reifung und der Probenauswahl der Muskulatur sowie des Alters und der Haltung der Tiere

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Naujok
Tierarzt aus Mönchengladbach

Berlin 1985
Journal-Nr. 1255

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher: Prof. Dr. F. Hörchner

Erster Gutachter: Prof. Dr. G. Reuter

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Tag der Promotion: 14. Oktober 1985

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATURÜBERSICHT	2
1. Zusammensetzung des Säugetiermuskels	2
1.1. Muskelaufbau	2
1.2. Myofibrilläre Proteine	2
1.3. Sarkoplasmaproteine	3
1.4. Hämoglobin und Myoglobin	5
2. Einflußfaktoren auf Protein- und Enzymzusammensetzung der Muskulatur	7
2.1. Muskelbiochemie verschiedener Muskeln intra vitam	7
2.2. Biochemische Prozesse im Muskel post mortem und Fleischreifung	11
2.3. Alter der Tiere	13
2.4. Haltung und Fütterung der Wildtiere	14
3. Möglichkeiten der Proteinbestimmung	15
3.1. Darstellung löslicher Proteine im elektrischen Feld	15
3.2. Qualitative Eiweißbestimmungen = Proteintrennungen zur Tierartendifferenzierung	15
3.2.1. Elektrophorese	16
3.2.2. Elektrofokussierung	18
3.2.3. Anwendungsmöglichkeiten der isoelektrischen Fokussierung	18
3.3. Genauigkeit quantitativer Proteinbestimmungen von Muskelextrakten für den Einsatz in der Fokussierung	20
4. Herrichtung und Lagerdauer von Muskelextrakten für die isoelektrische Fokussierung	21

	Seite
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	22
1. Material	22
1.1. Probenmaterial	22
1.2. Geräte und Hilfsmittel für geprüfte Fleischqualitätsparameter	27
1.2.1. Temperaturmessung	27
1.2.2. pH - Messung	27
1.2.3. Filterpapierpreßmethode zur Ermittlung des auspreßbaren Gewebewassers (Q - Wert)	27
1.3. Spezielle Geräte für die Probenaufarbeitung	27
1.4. Geräte und Hilfsmittel für die isoelektrische Fokussierung	28
1.5. Referenzsubstanzen zur Auswertung der Pherogramme	30
1.6. Geräte für die Densitometrie	30
1.7. Material und Geräte für die Eiweißbestimmung mittels der Biuret - Methode	31
1.8. Material und Geräte für die Hämoglobin - Bestimmung	32
2. Methodik	33
2.1. Ermittlung des Reifungszustandes des Fleisches	33
2.2. 2.1.1. Temperaturmessung	
2.1.2. pH - Messung	
2.1.3. Filterpapierpreßmethode zur Ermittlung des ungebundenen Wassers	34
2.2. Herstellung der Extrakte für Reihenuntersuchungen	34
2.3. Elektrofokussierung	35
2.4. Densitometrie	37
2.5. Auswertung und Darstellung der Ergebnisse der Elektrofokussierung	38
2.6. Eiweißbestimmung mittels der Biuret - Methode und Leerwertkorrektur	39
2.7. Hämoglobin - Bestimmung und Hämoglobin - Korrektur des Gesamteiweißes	39

Seite

2.8. Modellversuche zur Frage einer eventuell notwendigen Eiweißeinstellung bei der Fokussierung 40

3. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen 42
3.1. Modellversuche zur Frage einer eventuell notwendigen Eiweißeinstellung bei der Fokussierung 42
3.2. Ergebnisse der isoelektrischen Fokussierung 45
3.2.1. Vergleich von Reifungsproben 45
3.2.2. Vergleich verschiedener Muskelproben 53
3.2.3. Vergleich verschieden alter Tiere 64
3.2.4. Vergleich Wildbahn/ Gatterhaltung 65
3.2.5. Vergleich der Probenaufbewahrung 65
3.2.6. Tierdifferenzierung aller untersuchten Tiere 65
3.3. Überprüfung der Eiweißkonzentrationen bei den einzelnen Versuchseinstellungen 70
Ergebnisse der Eiweißbestimmung
3.3.1. bei den Reifungsproben 70
3.3.2. bei verschiedenen Muskelproben 71
3.3.3. bei verschieden alten Tieren 73
3.4. Charakterisierung der Fleischqualitätsparameter des Probenmaterials 73

D. DISKUSSION

1. Erkenntnisse zur Methodik des PAGIF - Verfahrens 77
2. Erkenntnisse zur Methodik der Proteinbestimmungen 81
3. Erkenntnisse zur Fokussierung bei der Tierartendifferenzierung 83
3.1. Vergleich von Reifungsproben 83
3.2. Vergleich verschiedener Muskelproben 83
3.3. Vergleich verschieden alter Tiere 86
3.4. Vergleich Wildbahn/ Gatterhaltung 87
3.5. Vergleich der Lagerung des Probenmaterials 87
3.6. Tierartendifferenzierung 88

	Seite
D. 4. Erkenntnisse zur quantitativen Eiweißbestimmung der Muskelextrakte	90
5. Fleischqualitätsparameter der untersuchten Tiere	91
E. SCHLUßFOLGERUNGEN	94
F. ZUSAMMENFASSUNG	96
G. SUMMARY	99
H. ANHANG I	102
I. ANHANG II	115
K. LITERATURVERZEICHNIS	125

Im Text verwendete Abkürzungen

M. long. dorsi - Musculus longissimus dorsi, Höhe 13. Rippe
Mm. add. - Musculi adductores
Mm. pect. - Musculi pectorales
Mm. rhom. - Musculi rhomboidei
Diaphr. - Pars muscularis des Diaphragma

Rd. - Rind
Haus - Sw - Hausschwein
Wild - Sw., WS - Wildschwein
Damw. - Damwild
Rehw. - Rehwild
Rotw. - Rotwild

PAGE - Elektrophorese auf Polyacrylamidgelplatten
IF, IEF - isoelektrische Fokussierung
PAGIF - isoelektrische Fokussierung auf Polyacrylamidgelplatten
AGIF - isoelektrische Fokussierung auf Agaroseplatten
IP - isoelektrischer Punkt

FlBG - Fleischbeschaugesetz
LMBG - Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz

LDH - Laktat- (Milchsäure-) dehydrogenase
MDH - Malatdehydrogenase
ATP - Adenosintriphosphat
Hb - Hämoglobin
Mb - Myoglobin
SDS - Sodium- (Natrium-) dodecylsulfat
AG - Antigen
AK - Antikörper
PSE - Pale, Soft, Exsudative
DFD - Dark, Firm, Dry

F - Gesamtfläche (bei der Filterpapierpreßmethode)
f - Fleischfläche
Q-Wert - Quotient aus f und F (Q=f/F)
WBV - Wasserbindungsvermögen

d - Tag
g - Gramm
mg - Milligramm
ml - Milliliter
M - molar
h - Stunde
min. - Minute
p.m. - post mortem

n - Anzahl der Tiere, Anzahl der Proben
s - Standardabweichung um den Mittelwert
$\bar{x}$ - arithmetischer Mittelwert
min. - Minimum
max. - Maximum

A. EINLEITUNG

Die isoelektrische Fokussierung hat sich in den letzten Jahren zu einem geeigneten Instrument in der Tierartendifferenzierung entwickelt. Ohne große adspektorische und sensorische Anstrengungen sowie serologische Tests ist es möglich geworden, Tier- und Fischarten zu unterscheiden (RUBACH et al., 1978; KAISER et al., 1980; FÜHRLING und GERSONDE, 1980; PLEIN, 1984; DLABKA, 1984, 1985; HOFMANN, 1985).

Doch selten bzw. nur unzureichend wurden dabei mögliche Einflüsse durch die Fleischreifung, unterschiedliche Entnahmestellen (Muskelproben), Alter oder Haltung der Tiere berücksichtigt. Aufgabe dieser Arbeit sollte sein, diese Einflüsse sowohl bei Haus- als auch bei Wildtieren zu untersuchen. Es sollte geprüft werden, ob gravierende Einflüsse vorhanden waren und ob diese zu Schwierigkeiten bei der Tierartendifferenzierung führen können.

Bei den Untersuchungen wurde das bereits bekannte PAGIF - Verfahren angewandt. Bei diesem Verfahren mit 1,0 mm dicken Gelplatten ist die Frage einer eventuell notwendigen Einstellung der Eiweißkonzentration der Muskelextrakte auf 1 % = 10 mg/ ml, wie sie in der Methodensammlung zum § 35 LMBG und von einem Arbeitsteam im BGA (PROTZ et al., 1984) empfohlen wird, offen.

Eine weitere zu untersuchende Problemstellung bestand in der Auswirkung einer zeitlichen Differenz zwischen Entnahme und Untersuchung und damit der Möglichkeit der Aufbewahrung von Proben sowie des Einsatzes von Referenzproben.

Um den Zustand der untersuchten Muskulaturproben zu charakterisieren, wurden Fleischqualitätsparameter (pH, Temperatur und ungebundenes Wasser) bei den Proben geprüft.

B. LITERATURÜBERSICHT

B. 1. Zusammensetzung des Säugetiermuskels

Das Fleisch setzt sich aus ca. 75 % Wasser, 18 % Eiweiß, 3,5 % löslichen, proteinfreien Substanzen und 3 % Fett zusammen (LAWRIE, 1970). Von den Proteinen sind ungefähr 30 % wasserlöslich, während die anderen 70 % dem Aufbau der strukturellen Muskelmasse dienen (HAMM, 1972).

B. 1.1. Muskelaufbau

Das Muskelgewebe besteht aus Faserbündeln, diese sind ihrerseits aus Muskelfasern, den eigentlichen Muskelzellen zusammengesetzt. Die Zellmembran der Muskelzelle, das Sarkolemm, umhüllt neben einigen hundert Myofibrillen das Zyto- oder Sarkoplasma und mehrere Zellkerne (HAMM, 1972), Tab. 1.

Die Muskelproteine (LAWRIE, 1970) lassen sich anhand ihrer unterschiedlichen Löslichkeit in 3 Gruppen unterteilen:

1. Die myofibrillären Proteine sind in konzentrierten Salzlösungen löslich.
2. Die sarkoplasmatischen Proteine lassen sich in Wasser oder schwachen Salzlösungen lösen.
3. Die Bindegewebsproteine und andere geformte Strukturen lassen sich in keinem der genannten Mittel lösen.

B. 1.2. Myofibrilläre Proteine

Die Angaben entstammen den folgenden Literaturquellen: HAMM, 1972; LAWRIE, 1970; PETRIDES und LÖFFLER, 1979.

Die Myofibrillen sind durch sog. Z - Scheiben in Sarkomere, 2 µm lange Abschnitte, unterteilt. Die lichtmikroskopisch sichtbare Streifung der Sarkomere entsteht durch die Anordnung von dicken (Myosin-) und dünnen (Aktin-) Filamenten. Die Aktinfilamente sind in ihrer Mitte an der Z - Scheibe fixiert bzw. werden durch sie in zwei Hälften geteilt. Ein Sarkomer wird also von 2 verschiedenen Aktinfilamentbündeln mitgebildet, deren Enden sich nicht berühren. Stattdessen überlappen sie sich mit den Myosinfilamenten. Sechs dünne Aktinfilamente sind um eine dicke Myosinfaser gelagert.

Außer diesen beiden kontraktilen Proteinen, Myosin und Aktin, (anisotrope A - Bande: hell) existiert noch das Tropomyosin, das sich mit dem Aktin verknüpft (isotrope I - Bande: dunkel).

Die Querstreifung des Muskels läßt sich optisch so konstruieren:

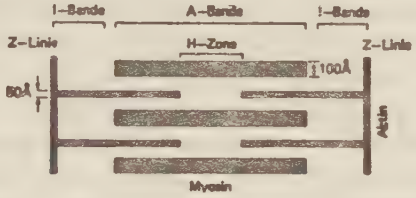
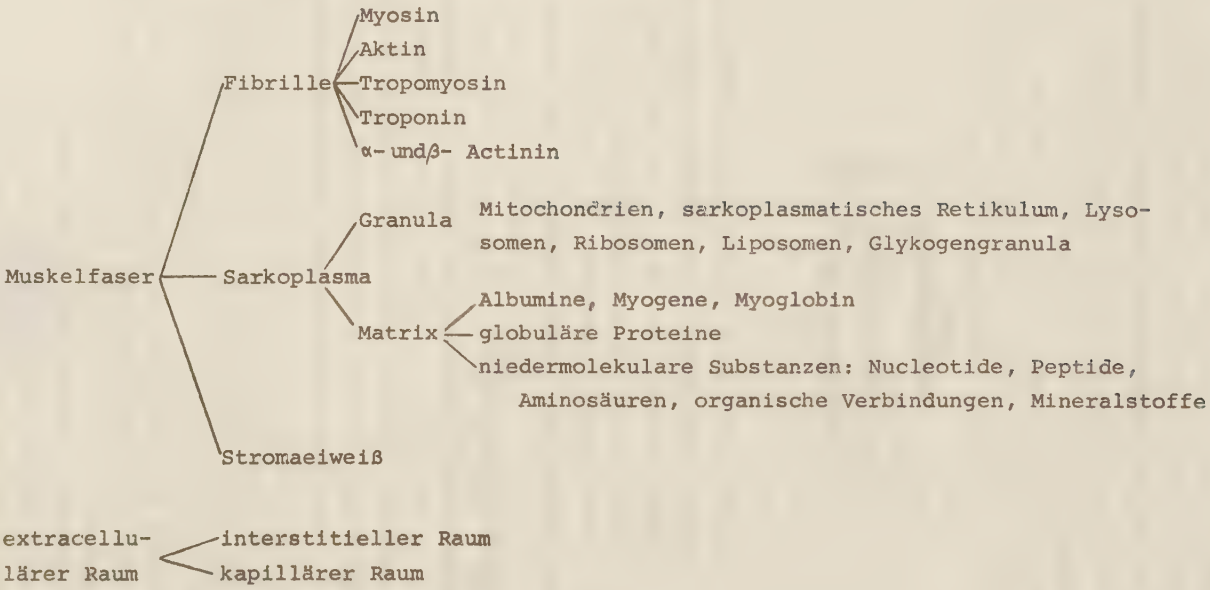


Abb. 1: Anordnung der Filamente im quergestreiften Muskel
Z - Linie: Trennscheibe zwischen den Sarkomeren
I - Bande: Aktinfilamente
A - Bande: Aktin- und Myosinfilamente
H - Bande: Myosinfilamente
Nach HUXLEY und HANSON (1960)

B. 1.3. Sarkoplasmaproteine

Im Sarkoplasma, das Mineralstoffe, Salze, Creatinphosphat und Aminosäuren enthält, sind eine Vielzahl von Proteinen (> 100) gelöst: globuläre Proteine, der Muskelfarbstoff Myoglobin, die Myogenfraktionen A, B und C, das Hämoglobin und glykolytische Enzyme, z.B. die Laktatdehydrogenase sowie wasserlösliche Albumine. Außerdem sind noch korpuskuläre Teilchen suspendiert: Bruchstücke des sarkoplasmatischen Retikulums, Ribosomen, Liposomen, Lysosomen, Glykogengranula und die Mitochondrien, die Enzyme des Citratzyklus (z.B. Citratsynthase oder Malatdehydrogenase) und der Atmungskettenphosphorylierung sowie ATPase und Myokinase enthalten (KRONMANN et al., 1960; LAWRIE, 1970; KARLSON, 1984).

Tab. 1: Zusammensetzung des Muskels,
modifiziert nach HAMM (1972) und HOFMANN (1982)



B. 1.4. Hämoglobin und Myoglobin

Hämoglobin transportiert den Sauerstoff im Blut, und Myoglobin speichert den Sauerstoff in der Muskulatur (PETRIDES, 1979).

Myoglobin ist ein relativ kleines globuläres Protein mit 153 Aminosäuren. Es enthält eine Eisen - Porphyrin- oder Häm - Gruppe, die mit der des Hämoglobins identisch ist (PETRIDES, 1979). Das Myoglobinmolekül kann seinen chemischen Zustand ändern. Entscheidend ist dabei die Form, in der das Eisen - Ion vorliegt (reduziert: Myoglobin; oxygeniert: Oxymyoglobin; oxidiert: Metmyoglobin) und der Zustand des Globins, das mit dem Hämatinkern verbunden ist. Sobald die Globulinkomponente denaturiert ist, z.B. durch das Fehlen eines Reduktionsmittels, werden Myoglobin und Oxymyoglobin zu Metmyoglobin oxidiert (LAWRIE, 1970).

Myoglobin kann Sauerstoff reversibel anlagern, es vergrößert auch die Sauerstoff - Diffusionsrate durch die Zellen. Myoglobin kommt in den Zellen der Skelettmuskulatur vor und ist besonders reichlich in tauchenden Säugetieren, wie Wal, Seehund und Walroß, zu finden.

Hämoglobin enthält zwei α - Ketten und zwei β - Ketten, wobei jede Kette eine Häm - Gruppe in nicht - kovalenter Bindung trägt. Beide, α- und β- Ketten, bestehen zu etwa 70 % aus α - Helix wie das Myoglobin. Auffallend ist, daß die Tertiärstruktur von α- und β- Ketten der einzelnen Myoglobinkette sehr ähnlich sieht. Das stimmt mit den sehr ähnlichen biologischen Funktionen der beiden Proteine überein, der Fähigkeit, O_2 reversibel zu binden (LEHNINGER, 1979).

Jede Untereinheit des Hämoglobins besitzt ein Molekulargewicht von 17.000, insgesamt besitzt das Hämoglobin also ein Molekulargewicht von 67.000 bzw. 68.000 (KARLSON, 1984; PETRIDES, 1979).

Beim Sauerstofftransport wird der Sauerstoff reversibel an das Hämeisen angelagert (Oxygenierung), ohne daß Eisen im Schutz der "koordinativen" Bindung Fe - N (Histidin) oxidiert wird.

Wird das zweiwertige Eisen jedoch im Hämoglobin zu dreiwertigem oxidiert, so kann das entstandene Methämoglobin (Hämiglobin) keinen Sauerstoff mehr transportieren.

Gegenüber dem Myoglobin zeigt Hämoglobin eine sigmoidale Anlagerungskurve gegenüber der hyperbolen vom Myoglobin. Dieser sogenannte kooperative Effekt beruht darauf, daß die O_2 - Aufnahme mit steigendem O_2 - Partialdruck anfänglich geringer ist als beim Myoglobin, aber mit jeder weiteren Anlagerung eines O_2 - Moleküls stärker ansteigt (PETRIDES, 1979).

Änderungen des chemischen Zustandes von Hämoglobin und Myoglobin können Änderungen ihrer elektrischen Ladungen und damit eine eine Änderung ihrer isoelektrischen Punkte.

Durch elektrophoretische Untersuchungen und isoelektrische Fokussierung konnte eine unterschiedliche Anzahl von Myoglobin- und Hämoglobinkomponenten mit verschiedenen isoelektrischen Punkten festgestellt werden (MALAMUD und DRYSDALE, 1978; RIGHETTI und CARAVAGGIO, 1976).

Sowohl beim Myoglobin als auch beim Hämoglobin kommen wegen unterschiedlicher Globinkomponenten verschiedene Typen vor: zwischen den verschiedenen Tierarten, aber auch zwischen Individuen derselben Population (BUSCHMANN, 1964; CASTILLO et al., 1978).

B. 2. Einflußfaktoren auf Protein- und Enzymzusammensetzung der Muskulatur

B. 2.1. Muskelbiochemie verschiedener Muskeln intra vitam

Die von einigen Autoren (SALOMON et al., 1981; LINDHOLM und PIEHL, 1974; ASHMORE und DOERR, 1971; BARNARD et al., 1971; LAWRIE, 1970) vorgenommenen Einteilungen der Muskelfasertypen beruhen fast immer auf Unterschieden in ihrer biochemischen, enzymatischen oder physiologischen Ausstattung bzw. ihrem Aufbau. Insgesamt kann jedoch eine Grobeinteilung wie folgt vorgenommen werden (PETRIDES und LÖFFLER, 1979; LAWRIE, 1970):

1. Weiße Muskelfasern
   sind Fasern mit hoher Kontraktions- und Erschlaffungsgeschwindigkeit. Sie haben einen geringen Myoglobingehalt. Sie haben sehr hohe Glykogenphosphorylase-, Triosephosphatdehydrogenase- und Laktatdehydrogenaseaktivitäten; die Schlüsselenzyme des Citratzyklus (Citratsynthase) sowie der Fettsäureoxidation haben nur eine geringe Aktivität.
2. Rote Muskelfasern
   sind Fasern mit langsamer Kontraktions- und Erschlaffungsgeschwindigkeit. Diese Fasern haben einen hohen Myoglobingehalt. Die Aktivitäten der glykogenolytischen und glykolytischen Enzyme sind deutlich niedriger, dagegen zeigen Citratsynthase und Hydroxylacyl - CoA - Dehydrogenase höhere Aktivitäten. Fettsäuren werden dem Glykogen als Energielieferant vorgezogen.
3. Intermediärfasern
   nehmen bezüglich ihres Metabolismus eine Mittelstellung zwischen den roten und weißen Fasern ein.

Diese Fasertypen kommen in den Muskeln eines Säugetieres in unterschiedlicher Verteilung vor.
So überwiegen die wenig ermüdenden roten Fasern in den Haltemuskeln bzw. in den dauernd beanspruchten Muskeln, die aufgrund ihres Aussehens als rote bzw. dunkle Muskeln bezeichnet werden. Die weißen Fasern finden sich vermehrt in den Bewegungsmuskeln, die als weiße oder helle Muskeln angesehen werden (KOLB, 1980; BADER, 1981).

Bei den Untersuchungen der Skelettmuskulatur von Schweinen während der Wachstumsperiode (VAN DEN HENDE, 1967) zeigte sich, daß die Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase sich gegenüber dem postnatalen Ausgangswert versechsfachte, während sich gleichzeitig die Aktivitäten der Malatdehydrogenase und Bernsteinsäuredehydrogenase der hellen Muskulatur (M. longissimus dorsi, M. semimembranosus, M. semitendinosus, M. biceps) um mehr als 50 % des Ausgangswertes und in den dunkelroten auf 2/3 des Ausgangswertes verminderten.

BASS et al. (1969) bestimmten die Aktivitäten wichtiger Schlüsselenzyme (Phosphorylase und glykolytische Enzyme), u.a. in weißer und roter Muskulatur. Sie bildeten aus den Aktivitäten dieser Enzyme charakteristische Quotienten als Ausdruck der metabolischen Abbaumöglichkeiten weißer und roter Muskulatur.

BIRKHARDT et al. (1972) untersuchten die Gesamtaktivitäten von LDH und MDH in verschiedenen Lokalisationen beim Schwein:

	LDH	MDH
Rückenmuskel	1427,0	154,3
weißer Muskel	1086,0	138,0
roter Muskel	193,5	305,4
Zwerchfell	498,0	309,4

BERMAN stellte schon 1961 unterschiedliche Aktivitäten der Laktatdehydrogenase in verschiedenen Rindermuskeln fest.

Außerdem steht die Muskelfunktion in enger Beziehung zum Myoglobingehalt. EL - BADAWI und HAMM (1970) untersuchten verschiedene Muskeln bei Rind und Schwein. Je stärker aerob der Muskelstoffwechsel orientiert ist, umso höher ist der Myoglobingehalt der Gewebe, während vorwiegend anaerob funktionierende Muskeln verhältnismäßig wenig Myoglobin enthalten. Die Aktivität von LDH sollte mit zunehmender aerober Funktion des Muskels abnehmen. Die Aktivität des LDH - Isoenzyms LDH_V stand in negativer Korrelation zum Myoglobingehalt. Dieses sprach dafür, daß LDH in erster Linie für die anaerobe Glykolyse erforderlich ist.

Neben diesen Unterschieden gibt es noch Angaben über andere "Parameter", die sich ändern.

LAWRIE et al. (1963) untersuchten den Gehalt an Gesamtstickstoff in Muskeln von Schweinen und Rindern. Sie fanden heraus, daß die Stickstoffverteilung und der Gesamtstickstoff der Muskeln verschieden sind. Sie schlossen auf quantitative und qualitative Proteinunterschiede verschiedener Muskeln.

GISSEL (1978) fand bei der Extraktion mit Aceton und anschliessender Trocknung von Proben aus Schinken, Nacken und Kotelett von Schweinen einen unterschiedlichen Eiweißgehalt, der in der genannten Reihenfolge zunahm.

Neben dem Stickstoff- und dem Proteingehalt wurde auch die Myoglobinkonzentration bestimmt. Dabei erhielten WILSON et al. (1959) für weiße Muskulatur 1,2 mg Myoglobin/ g Muskel und für die rote Muskulatur Werte, die zwischen 1,6 und 2,3 mg/ g lagen. Zu einem ähnlichen Ergebnis führten die Untersuchungen von LAWRIE (1970). Der Myoglobingehalt schwankte sowohl zwischen den Muskeln als auch innerhalb der Muskeln.

Eine auffallende Veränderung im Muskelaufbau während systematischen Muskeltrainings ist die Bildung von Myoglobin, welches in inaktiven Muskeln nur in geringem Maße aufgebaut wird (LEHMANN, 1904; HAMMOND, 1932; PATTENGALE und HOLLOSZY, 1967). Mit einer Myoglobinzunahme scheint auch eine Zunahme der Enzym-Wirkung im respiratorischen System einherzugehen (DENNY-BROWN, 1961). Außerdem steht nach BIRKHARDT et al. (1972) die Muskelfaserdicke in umgekehrter Beziehung zur aeroben Leistungsfähigkeit. So sind die geringeren Faserdurchmesser und die bessere Kapillarversorgung der roten Muskelfasern Ausdruck der Anpassung an ständige Kontraktionen bei konstanter Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr. PERSSON et al. (1979) beobachteten bei systematischer Bewegung über einen längeren Zeitabschnitt Veränderungen in der Muskelbiochemie (Zunahme der Enzymaktivitäten).

ASHMORE (1974) fand postnatal eine Zunahme von weißen Fasern durch Transformation aus roten Fasern sowie eine Größenzunahme der weißen Fasern bei ausbleibender funktioneller Belastung.

HELANDER (1957) beobachtete beim Funktionsausfall der Muskulatur eine Abnahme des Gesamtstickstoffs sowie der Anteile an myofibrillären und sarkoplasmatischen Proteinen; bei Funktionsherabsetzung verminderten sich die Proteine nur.

Elektrophorese und isoelektrische Fokussierung brachten weitere Möglichkeiten zur Unterscheidung bzw. Differenzierung von roter und weißer Muskulatur.

KRONMANN et al. (1960) konnten elektrophoretisch nach wäßriger Extraktion von Rindermuskeln beachtliche Unterschiede, jedoch ohne ein System, in den relativen Mengen der Komponenten sowohl zwischen den Muskeln als auch zwischen den einzelnen Tieren feststellen. Auch die Ultrazentrifugationsmuster derselben Proben konnten nicht systematisiert werden. SCOPES (1970) fand beim Vergleich Herzmuskel/ roter Muskel/ Skelettmuskel des Kaninchens mittels der Stärkegelelektrophorese, daß beim Herzmuskel und beim roten Muskel eine zu den Protein - Enzymen zugehörige Bande nicht sichtbar war. Die in diesen beiden Muskeln festgestellte Laktatdehydrogenase - Wirkung stand mit einem völlig andersartigen Protein in Verbindung. Auch CHAMPION et al. (1970) fanden mittels der Elektrophorese deutliche Unterschiede zwischen weißer und roter Muskulatur bei Kaninchen- und Schweinemuskulatur.

Bei den Untersuchungen von KAISER et al. (1980), die wasserlösliche Proteine von Rindermuskeln mittels der Elektrophorese (PAGE) und isoelektrischen Fokussierung (PAGIF und AGIF) auftrennten, waren die Pherogramme völlig gleich. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen HEINERT und KLINGER (1970), die mit Hilfe der Elektrophorese (PAGE) mit Tris/ Borsäure - Puffer extrahierte Fleischproben von verschiedenen Körperregionen bei Rind und Schwein untersuchten.

GISSEL (1978) extrahierte myofibrilläres Eiweiß von Schweinefleischproben mit einem TRIS - EDTA - Borsäure - Saccharose - Puffer. Bei ihrer elektrophoretischen Untersuchung ergaben sich erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Lokalisationen (Nacken, Kotelett, Schinken), die ebenso erheblich waren wie die Unterschiede zwischen den Tierarten. Elektrophoretisch

untersucht wurden von ihm auch die Auftauflüssigkeiten (die beim Auftauen aus dem Fleisch austretende Flüssigkeit); dabei ließen sich die Pherogramme von Nacken und Schinkenmuskulatur vergleichen, Kotelettmuskulatur zeigte ein anderes Pherogramm. Bei anderen von GISSEL (1978) untersuchten Tierarten traten Unterschiede zwischen den verschiedenen Lokalisationen nicht auf. Außerdem ließen sich die bei der Elektrophorese gewonnenen Ergebnisse nicht mit der isoelektrischen Fokussierung nachvollziehen.

KÖNIG (1982) konnte bei den Pherogrammen verschiedener Muskelproben von Haus- und Wildschwein zahlreiche qualitative (Elektrophorese) und quantitative (isoelektrische Fokussierung) Unterschiede erkennen. Dabei zeigten einerseits Kamm und Schulter sowie andererseits Kotelett und Schinken jeweils eine stärkere Übereinstimmung.

B. 2.2. Biochemische Prozesse im Muskel post mortem und Fleischreifung

Die Angaben entstammen den Literaturquellen: BOSCO (1963), GRAU (1968), BARTELS (1968), LAWRIE (1970), HAMM (1972, 1979, 1981) und REUTER (1984).

Im lebenden Muskel befinden sich auf- und abbauende Vorgänge im Gleichgewicht, das bei Eintritt des Todes durch Unterbrechung der Nährstoff- und Sauerstoffzufuhr zugunsten der abbauenden Vorgänge verschoben wird. Unmittelbar nach dem Tode befinden sich die Muskeln in einem flexiblen, weichen und erschlafften Zustand. Vorhandenes ATP verhindert, daß Aktin und Myosin eng zusammentreten (Weichmacherwirkung des ATP). Sowohl durch den Abbau von Creatinphosphat zu Kreatin als auch durch die Umwandlung von Glykogen zu Laktat (Glykogenolyse) wird zunächst noch ATP bereitgestellt. Die Glykogenolyse läuft beim Rind noch bis 24 oder 36 Stunden, je nach Temperatur, ab. Sie wird erst durch den durch die Bildung von Milchsäure bedingten pH - Abfall sowie durch Reaktionsprodukte der Glykogenolyse gehemmt. Die energiereichen Phosphate werden abgebaut, ATP wird enzymatisch gespalten. Gleichzeitig dringen Ca-Ionen aus den Zellorganellen in das Sarkoplasma, was die blok-

kierende Wirkung des Troponin - Tropomyosin - Systems aufhebt und zu einer Aktivierung der kontraktilen ATPase führt. Anschließend werden je nach Tierart die Muskeln mehr oder weniger rasch unter Kontraktur starr und hart = Totenstarre oder Rigor mortis. Die Lösung des Rigor mortis, d.h. die Abnahme des Spannungszustandes der Muskulatur, leitet die Post - rigor - Phase ein, die nach Meinung einiger Autoren durch die Einwirkung proteolysierender Enzyme zustandekommt.

Die Lösung des Rigor mortis leitet die eigentliche Reifung des Fleisches ein. Unter Fleischreifung ist das Zartwerden des Fleisches und die Entwicklung eines entsprechenden Aromas während des Abhängens zu verstehen.

Mit der Umverteilung der Ionen und damit auch des Wassers zwischen den Zellen und deren Umgebung läßt sich die im Reifungsprozeß sich ständig vergrößernde Zartheit des Fleisches erklären. Die Proteinmoleküle können bei pH - Wert - Veränderung ihre räumliche Struktur verändern.

BENDALL und WISMER-PEDERSEN (1962) beobachteten bei einem raschen pH - Abfall eine stärkere Denaturierung der Sarkoplasmaproteine. Auch FUJIMAKI und DEATHERGATE (1964) fanden beim Sinken des pH - Wertes eine quantitative Abnahme und Abwandlung der Komponenten bei den sarkoplasmatischen Proteinen (Denaturierung, Präzipitation). Nach HAMM (1972) erfolgt möglicherweise eine proteolytische Spaltung von Peptidbindungen, vor allem bei Sarkoplasmaproteinen.

Tab. 2: Temperaturabhängigkeit der Reifung

- für Rindfleisch:	0° C	14 - 10	Tage
(REUTER, 1984)	10° C	6 - 5	Tage
	15° C	3	Tage
- für Schweinefleisch:	0° C	2 - 3	Tage

(REUTER, 1984)

Beim Schweinefleisch laufen die biochemischen Prozesse ähnlich ab wie im Rindfleisch, jedoch mit größerer Schnelligkeit

- Reifen des Wildbret bis zum "Hautgoût
  0 - 2° C 3 Wochen (BLASE, 1977)

  Die postmortalen Veränderungen verlaufen bei Wildbret ähnlich wie im Fleisch schlachtbarer Haustiere. Durch die straffe, fett- und bindegewebsarme Muskulatur kommt es zu einem späteren Auftreten der Reifung (BEHR und GREUEL, 1977)

FÜHRLING und GERSONDE (1980) waren der Auffassung, daß Reifungseinflüsse von untergeordneter Bedeutung bei der isoelektrischen Fokussierung sind. Zu demselben Schluß kam KÖNIG (1982) bei der Untersuchung von Haus- und Wildschweinmuskeln mit der PAGE- und PAGIF - Methodik. STOLLE et al. (1983) fanden eine geringfügige Zunahme der sog. S_1 - Bande bei fortschreitender Reifung mit dem PAGIF - Verfahren. Auch YOUNG et al. (1980) fanden mit einer ähnlichen Methode, der Sodium - Dodecyl - Sulfat (SDS-) Elektrophorese, Reifungsunterschiede.

B. 2.3. Alter der Tiere

Bei Untersuchungen von Schweinemuskeln sowie des M. longissimus dorsi vom Rind (LAWRIE et al., 1963) konnte eine starke Zunahme der Myoglobinkonzentration, eine geringe Zunahme der Gesamtstickstoffkonzentration und eine Abnahme des Wassergehaltes beobachtet werden. Bei Schweinen erfolgte die Phase der raschen Zunahme an Myoglobin im 1. Lebensjahr, bei Rindern zwischen dem 1. und 3. Lebensjahr. Danach erfolgte eine Phase langsamer und gleichmäßiger Zunahme (LAWRIE, 1970). Die Zunahme an Myoglobin ging mit einer Zunahme der Aktivität respiratorischer Enzyme einher. DIELSCHNEIDER (1985) konnte einen leichten Hämoglobin - Anstieg von jungen zu alten Rehen feststellen. Bei den Myoglobinwerten war altersbedingt ein deutlicher Anstieg vorhanden.

Die Enzymaktivität der LDH versechsfachte sich gegenüber dem postnatalen Ausgangswert während der Wachstumsperiode, die Aktivitäten der MDH und der Bernsteinsäuredehydrogenase der hellen Muskulatur sanken um mehr als 50 % des Ausgangswertes (VAN DEN HENDE, 1967). Zu einem ähnlichen Ergebnis kam PERRY (1970), der einen Aktivitätsanstieg der glykolytischen Enzyme im Muskelextrakt beobachten konnte.

Muskelextrakte von Tieren verschiedenen Lebensalters wurden auch mittels der Elektrofokussierung untersucht. Dabei wurden teils gegensätzliche Ergebnisse erzielt.
SPELL (1974) konnte bei der elektrophoretischen Untersuchung (PAGE) von harnstoffhaltigen Acetontrockenpulvern (Extraktion mit Aceton mit anschließender Trocknung) zwischen Kalb/ Rind sowie Lamm/ Schaf unterscheiden. Die Pherogramme untersuchter Muskelproben von Rind und Kalb mittels PAGIF wichen nur hinsichtlich ihrer Konzentration voneinander ab (RUBACH et al., 1978). KAISER et al. (1980) fanden bei der elektrophoretischen Auftrennung von Fleischextrakten wenig ausgeprägte Altersunterschiede bei Kalb/ Rind und Lamm/ Schaf/ Hammel. Dieselben Proben wurden auch mit dem PAGIF- und AGIF - Verfahren untersucht. Es ließen sich Rind und Kalb, aber nicht Lamm/ Schaf/ Hammel nach Altersstufen differenzieren.

B. 2.4. Haltung und Fütterung der Wildtiere

In den letzten Jahren gewinnt die Versorgung mit Wildbret, das von in Gattern gehaltenen Wildtieren stammt, immer mehr an Bedeutung. Dabei dürfte auch die Frage nach Einfluß der Fütterung bzw. Haltung auf das Proteinmuster von Wildfleisch zu klären sein.

Wildfleisch soll im Winter schmackhafter sein als im Sommer aufgrund des unterschiedlichen Nahrungsangebotes und der unterschiedlich starken Geschlechtstätigkeit zu verschiedenen Jahreszeiten (BEHR und GREUEL, 1977). Bei der sensorischen Untersuchung wurde der Geschmack des Fleisches von Damwild aus der freien Wildbahn nur geringfügig besser beurteilt als Fleisch aus der Gehegehaltung.
Auch beim Vergleich von Rot- und Damwild der verschiedenen Haltungsformen gab es keine gesicherten Unterschiede im Geschmack (FORSS et al., 1979; V. Decken, 1982; HEINZ und WINTER, 1983). Bei Gras- und Intensiv-Fütterung von Rotwild war das schnellere Wachstum mit einem höheren Fettgehalt des Schlachtkörpers verbunden. Das Verhältnis gesättigter zu ungesättigten Fettsäuren war zuungunsten der letzteren verschoben. Untersuchungen über Änderung im Proteinmuster wurden nach bisherigen Erkenntnissen nicht durchgeführt.

B. 3. Möglichkeiten der Proteinbestimmung

B. 3.1. Darstellung löslicher Proteine im elektrischen Feld

Die Angaben entstammen den Literaturquellen: LEHNINGER (1979); PETRIDES (1979); HOFMANN (1982).

Die Grundbausteine der Proteine, die Aminosäuren, tragen funktionelle Gruppen, sie sind positiv (z.B. $-NH_3^+$) oder negativ (z.B. $-COO^-$) geladen. Die Nettoladung der Proteinmoleküle ergibt sich aus der Differenz von positiven und negativen Ladungen, d.h. aus dem daraus resultierenden Ladungsüberschuß. Ergibt sich keine Differenz, d.h., sind Anzahl der positiven und negativen Ladungen gleich, ist das Molekül nach außen hin elektrisch neutral.
Bei Anlegen eines elektrischen Feldes werden gelöste Proteinmoleküle aufgrund ihrer Nettoladung (neg. bzw. pos.) entweder zum positiven bzw. negativen Pol wandern. Elektrisch neutrale Proteinmoleküle wandern nicht.
Durch Änderung des pH - Milieus (Zugabe von Säure oder Lauge, Titration) der Proteinmoleküle ändert sich auch ihr Ladungszustand. Ist die Ladung des Proteins an einem bestimmten pH - Wert gleich null, so bezeichnet man diesen als den sog. isoelektrischen Punkt. Da alle Proteine individuell aufgebaut sind, haben alle eine andere Ladung und einen anderen isoelektrischen Punkt. Dies macht man sich bei der Elektrofokussierung zunutze, indem man die Proteine aufgrund ihrer verschiedenen isoelektrischen Punkte voneinander trennt. Es gibt auch verschiedene Proteine mit gleichem pI.

B. 3.2. Qualitative Eiweißbestimmungen = Proteintrennungen zur Tierartendifferenzierung

Die verschieden aufgebauten Proteine der Muskulatur bieten eine gute Möglichkeit zur Identifizierung der Tierart.

Die zur Zeit angewandten serologischen Verfahren zur Kennzeichnung von rohem und auf nicht mehr als 70° C erhitztem Fleisch haben sich bei verwandtschaftlich weit auseinanderliegenden Tierarten gut bewährt. Bei nahe verwandten Tierarten treten Schwierigkeiten durch Kreuzreaktionen auf. Die serologischen bzw. immunologischen Tests, z.B. Ouchterlony, sind mit einem beträchtlichen materiellen und zeitlichen Aufwand verbunden; außerdem stehen nicht in jedem Fall geeignete Antiseren und diese nicht in ausreichenden Mengen zur Verfügung.
Es ist daher naheliegend, Proteindifferenzierungen mit elektrophoretischen Methoden wegen ihres geringen Zeitaufwandes auch bei der Identifizierung der Tierart anzuwenden.

B. 3.2.1. Elektrophorese

Die Trennung bei der Elektrophorese erfolgt nach unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeit geladener Teilchen im elektrischen Feld. Bei vorgegebenem pH - Wert hängt die Wanderungsgeschwindigkeit von der Ladungsdichte ab, also von den beiden Größen "Nettoladung" und "Molekülgröße" (FASOLD, 1972; LEHNINGER, 1979).

Nach dem eigentlichen Elektrophoreselauf werden Papierbogen oder Gelplatte in einem Gerbstoffbad mit Amidoschwarz 10 B[12] oder Coomassie Brillant Blue[24] gefärbt, danach wird mit einer Lösung aus Methanol, Eisessig und Wasser entfärbt.

Bei der Zonen- (Papier-) Elektrophorese wird die Trennung in einer festen Matrix, einem Träger, durchgeführt, der aus einem hydratisierten, relativ inerten und porösen Material (Filterstreifen oder Celluloseacetatstreifen) besteht.
Bei der Papierelektrophorese wird das Gemisch auf das mit einem Puffer getränkte Chromatographiepapier aufgebracht, das einem elektrischen Feld ausgesetzt wird. Die Proteine wandern als strichförmige, scharfe Banden über die Fläche (FASOLD, 1972; LEHNINGER, 1979).

Eine Weiterentwicklung in der Elektrophoresetechnik war der Übergang vom Papier zum Gel. So wird bei der Stärkegelelektrophorese teilhydrolysierte Stärke in der Pufferlösung bis zu einer Konzentration von etwa 10 % verwendet. Dieses Sol erstarrt beim Erkalten zu einem festen Gel mit weiten Maschen. Trotz der weiten Maschen bleibt dennoch ein Molekularsiebeffekt. Dieser ist z.T. für die große Trennschärfe der Methode verantwortlich. Neben den Stärkegelplatten werden auch Polyacrylamidplatten und -säulen benutzt, bei denen die Monomeren des Gels in Puffer aufgelöst werden und nach Zugabe eines Katalysators in der Elektrophoresekammer oder einem Glasröhrchen polymerisieren (FASOLD, 1972).

Bei der Sodium - Dodecyl - Sulfat - Elektrophorese wird die Trennung in Polyacrylamidgelen in Gegenwart von Natrium (Sodium) - Dodecylsulfat (SDS) vorgenommen, was die Trennbedingungen grundlegend verändert. Die negativ geladenen Dodecylsulfationen binden an die Proteinmoleküle. Die nunmehr negativ geladenen Proteine wandern im elektrischen Feld zum positiven Pol, dabei ist die Wanderstrecke nur noch vom Molekulargewicht abhängig.
Diese Methode bietet neben der gleichzeitigen Molekulargewichtsbestimmung den Vorteil einer hohen Trennschärfe und Reproduzierbarkeit (HOFMANN, 1982).

Dem Polyacrylamidgel kann auch Harnstoff (Harnstoffelektrophorese) zugesetzt werden. Dadurch wird die Dissoziation von störenden Proteinaggregaten gefördert und die Löslichkeit der Proteine erhöht (KUMARATILAKE und THOMPSON, 1979; ROTH, 1982; KÖNIG, 1982).

Im Anschluß an eine Trägergelelektrophorese kann eine Immunfällung (Immunpräzipitation) durchgeführt werden. Die Probe wird zuerst in einem Agargel elektrophoretisch aufgetrennt. In eine ausgestanzte Rinne wird ein Antiserum eingefüllt. Das Antiserum diffundiert nun gegen die Proteine der Probe. Beim Zusammentreffen eines Proteins der Probe mit seinem entsprechenden Antikörper aus dem Antiserum kommt es im Verlauf mehrerer Stunden zu einer Antigen/ Antikörper - Reaktion (PETRIDES, 1979).

B. 3.2.2. Elektrofokussierung

Die Elektrophorese eignet sich zwar zur Analyse von Proteingemischen, jedoch kann man nicht die isoelektrischen Punkte der nunmehr getrennten Proteine bestimmen (FASOLD, 1972). SVENSSON (1962) erfand die sog. isoelektrische Fokussierung, bei der ein Proteingemisch einem elektrischen Feld in einem Gel unterworfen wird, in dem zuvor ein linearer und stabiler pH - Gradient aufgebaut wurde. Die Proteine werden aufgrund ihrer verschiedenen isoelektrischen Punkte voneinander getrennt, sie "fokussieren an ihren isoelektrischen Punkten".

Die Gelplatte enthält die sog. Trägerampholyten, die zunächst zwischen Anode und Kathode ungeordnet liegen und unterschiedliche Ladungen haben. Beim Stromfluß wandern die geladenen Trägerampholyte so lange in Richtung der Elektrode mit umgekehrter Polarität, bis ihre Ladung gleich Null ist und sie an ihren isoelektrischen Punkten liegenbleiben. Durch "Grenzen", die durch Elektrolytlösungen mit extremen pH - Werten geschaffen werden, wird ein Herauswandern der Trägerampholyte verhindert. Der Stromfluß wirkt zu jedem Zeitpunkt einer Diffusion entgegen. Nach dieser Vorfokussierung, dem Aufbau eines konstanten pH - Gradienten, beginnt die eigentliche Fokussierung, die Trennung der Proteine.

Siebeffekte, wie bei der Elektrophorese, bei der nicht nur nach Nettoladung, sondern auch nach Molekülgröße getrennt wird, müssen bei der Elektrofokussierung möglichst gering gehalten werden. Die Porengröße eines Gels wird durch die Gelkonzentration T und den Vernetzungsgrad C des verwendeten Polyacrylamidgels bestimmt. Diesen Parametern ist bei der Auswahl der Gelplatten Beachtung zu schenken (NEUMANN, 1976; KÜHNL, 1979).

B. 3.2.3. Anwendungsmöglichkeiten der isoelektrischen Fokussierung

Die Angaben entstammen der Literaturquelle: BISHOP (1979).

Hauptsächlich wird die isoelektrische Fokussierung zur Reinheitsprüfung von Substanzen oder zur Bestimmung der isoelektrischen Punkte der Proteine angewandt. Daneben benutzt man

sie im gleichen Ausmaß zur Analyse der Proteinmikroheterogenität in der Krebsforschung. So können z.B. verschiedene Hämoglobinvarianten, von denen einige pathologisch sind, mit dieser Methode herausgefunden werden. Schon Veränderungen nur eines Aminosäuren - Restes können pathologische Auswirkungen haben.

In der humanmedizinischen Brustkrebsforschung fand man heraus, daß in einem Drittel der Fälle das Tumorwachstum hormonabhängig ist, d.h., man kann das Tumorwachstum einschränken, indem man die hormonellen Voraussetzungen ändert. Tumoren, die sog. Östradiolrezeptoren besitzen, deren Existenz man durch die isoelektrische Fokussierung nachweisen kann, können auf diese Art in ihrem Wachstum gehemmt werden.

Eine vorläufig noch am Anfang stehende Entwicklung ist die Produktion von Antiseren mit hoher Spezifität gegen bestimmte Proteine, z.B. Neurophysine. Neurophysine sind Carrier beim Transport und bei der Lagerung von neurohypophysialen Hormonen. Das Neurophysingemisch wird mittels der isoelektrischen Fokussierung aufgetrennt, ein Gelstreifen mit einem bestimmten Neurophysin, nun in hochgereinigter Form, homogenisiert und die erhaltene Suspension Kaninchen injiziert. Man erhält hohe Titer.

In der Lebensmittelüberwachung dient die isoelektrische Fokussierung der Echtheits- und Reinheitskontrolle, so z.B. zur Differenzierung von Tier- und Fischarten sowie deren Erzeugnissen oder zum Nachweis der Kuhmilch in Schaf-, Ziegen- oder Büffelmilch (KRAUSE und BELITZ, 1985).

In der forensischen Medizin erstrecken sich die Einsatzmöglichkeiten auf die forensische Serologie (Vaterschaftsbegutachtung, Spurenkunde), humangenetische Fragestellungen (Genkartierung) und pädiatrisch - klinische Aspekte (z.B. Defektallele) (KÜHNL, 1979).

Eine Weiterentwicklung bzw. Kombination von Fokussierung und Elektrophorese ist die isoelektrische Fokussierung mit anschließender Elektrophorese in einem AK - haltigen Agarosegel (Kreuzimmun - IF).

B. 3.3. Genauigkeit quantitativer Proteinbestimmungen von Muskelextrakten für den Einsatz in der Fokussierung

In der Methodensammlung zum § 35 LMBG wird für die Elektrofokussierung von Muskelextrakten auf 0,5 mm dicken Gelplatten eine vorherige Eiweißbestimmung und eine Eiweißeinstellung empfohlen. Aus einer Reihe von Eiweißbestimmungsverfahren wurde die Biuret - Methode vorgeschlagen. Ob diese hauptsächlich in der Humanmedizin angewandte Methode ohne weiteres auch für die Eiweißbestimmung in Muskelextrakten geeignet ist und ob Korrekturverfahren notwendig sind, sollte überprüft werden.

Eine andere mögliche Methode ist die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. Alle Proteine enthalten durchschnittlich 16 % Stickstoff. Eine indirekte Proteinbestimmung ist durch eine Stickstoffbestimmung möglich (16 % Stickstoff x 6,25 = 100 % Protein). Beim Kjeldahlverfahren werden die Proteine mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt. Der organisch gebundene Stickstoff wird als Ammoniumsulfat gebunden. Durch H_2O - Dampf nach Alkalisierung wird das Ammoniak ausgetrieben, welches quantitativ erfaßt und mit dem Faktor 6,25 multipliziert werden kann.
Diese Berechnung gilt strenggenommen nur für einfache Proteine, da zusammengesetzte Proteine einen stark variierenden Nichtproteinanteil besitzen. Es ist weiterhin zu beachten, daß bei dieser Bestimmung auch andere Stickstoffverbindungen (Nucleinsäuren, Harnstoff, Harnsäure, Aminosäuren) miterfaßt werden (PETRIDES, 1979).

Bei der Biuret - Methode werden die Proteine mit einem Gemisch von Cu^{2+} und Alkali versetzt. Dies führt zur Bildung eines Cu^{2+} - Peptid - Komplexes, dessen violette Farbe im Photometer gemessen werden kann (Boehringer Mannheim - bzw. Merck - Arbeitsanleitung "Gesamt - Eiweiß", 1984).
Jedoch werden bei dieser Methode in den Muskelextrakten nicht nur die löslichen, sich bei der Fokussierung trennenden Proteine miterfaßt, sondern auch kolloidal gelöste und sich nicht trennende Proteine (FÜHRLING, Pers. Mitteilung 1984).
Des weiteren stört die Eigenfarbe verschiedener Chromoproteide die photometrische Messung (Sigma Techn. Bulletin No. 540 (1974)).

Zur Erfassung einiger Chromoproteide kann eine separate Hämoglobin - Bestimmung durchgeführt werden.
Hämoglobin und Hämoglobin - Derivate werden durch Kaliumhexacyanoferrat (III) und Kaliumcyanid in Hämoglobincyanid überführt (Behring Arbeitsanleitungen Testomar - Hämoglobin, 1984).

B. 4. Herrichtung und Lagerdauer von Muskelextrakten für die isoelektrische Fokussierung

Die Herrichtungsformen und die Lagerdauer spielen bei der Tierartendifferenzierung eine besondere Rolle. Nicht immer können die eingegangenen Proben sofort verarbeitet werden, und Referenzproben können nicht unbedenklich lang gelagert werden.

Verschiedene Autoren (PENNY, 1970; HEINERT und KLINGER, 1978; GISSEL, 1978) beobachteten keine bzw. kaum Veränderungen in den Pherogrammen tiefgefrorener Muskelextrakte bei der PAGE. KAISER et al.(1980) unterschieden zwischen der Verwendung gefriergetrockneter Fleischhomogenisate, eingefrorener Muskelextrakte und lyophilisierter Muskelextrakte. Während sich die Extrakte gefriergetrockneter Fleischhomogenisate in ihren Proteinmustern genauso verhielten wie die tiefgefrorenen Extrakte, zeigten die PAGIF - Pherogramme lyophilisierter Muskelextrakte keine Ähnlichkeit. Ein Arbeitsteam des Bundesgesundheitsamtes, BGA, das lyophilisierte Muskelextrakte als Referenzsubstanzen verschickt, beobachtete die gleichen Pherogrammeigenschaften wie bei den frischen Extrakten (PROTZ, 1983, 1984). PLEIN (1984) konnte lediglich einen geringen Intensitätsverlust, jedoch keine Veränderung der Bandenanzahl bei 8 Wochen gelagerten, tiefgefrorenen Extrakten von Hirsch und Schaf feststellen.
Bei den Untersuchungen von HOFMANN (1985) zeigte sich, daß die Lagerung des Fleisches, das Gefrieren und Auftauen sowie die Gefrierlagerung die qualitative Beschaffenheit der von ihm zur Identifizierung maßgebenden Myoglobinmuster nicht beeinflußt.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

C. 1. Material

C. 1.1. Probenmaterial

Die Muskelproben von Haus- und Wildtieren wurden bis auf 2 Ausnahmen in Berlin gewonnen, in der Zeit von Oktober 1982 bis Juni 1983 sowie von November 1983 bis Mai 1984. Einzugsquellen waren der Schlachthof Berlin - Spandau, die Berliner Forstämter Spandau, Grunewald und Tegel sowie eine Wildimport- und Verarbeitungsfirma.

Die Probeentnahme bei den Haustieren Rind und Schwein erfolgte nach der Schlachtung (nur Normalschlachtungen) und Beurteilung als taugliche Tierkörper gemäß § 6 FlBG.

Für die Untersuchungen des Fleischreifungsverlaufes wurden Proben beim Rind aus den Mm. rhomboidei entnommen. Beim Hausschwein erfolgte eine Entnahme ebenfalls aus den Mm. rhomboidei.

Für den Vergleich verschiedener Muskelstellen wurden 5 g schwere Fleischstücke sowohl für das Rind als auch für das Schwein aus der Pars muscularis des Diaphragma, dem M. longissimus dorsi in Höhe der 13. Rippe, den Mm. adductores und den Mm. rhomboidei entnommen.

Für den Vergleich verschieden alter Tiere (Kalb/ Rind und Ferkel/ Schwein) wurden Proben aus den Mm. adductores gezogen.

Bei den nicht gespaltenen Wildtieren (Schwarz-, Reh-, Rot- und Damwild) war eine Probenahme aus verarbeitungstechnischen Gründen nur von den zugänglichen oder von den für die Vermarktung weniger brauchbaren Teile möglich. Die Probenahme konnte bei den aus freier Wildbahn oder aus Gattern stammenden Wildtieren nicht immer sofort vorgenommen werden, der Entnahmezeitpunkt wurde jedoch festgehalten.

Für die Untersuchung der Fleischreifung wurden bei den vier Wildtierarten Schwarz- (Wildschwein), Dam-, Reh- und Rotwild Proben aus den Mm. adductores entnommen.

Für den Vergleich verschiedener Muskelstellen mußte auf Wildtiere aus Importbetrieben zurückgegriffen werden. Allerdings konnten wegen des Marktwertes derartiger Tierkörperteile nur Proben aus der Pars muscularis des Diaphragma und den Mm. pectorales gezogen werden. Für Damwild konnten Proben nicht beschafft werden.

Für den Vergleich verschieden alter Tiere (Wildschwein) sowie den Vergleich des Einflusses von Wildbahn- bzw. Gatterhaltung (Wildschwein und Damwild) wurde auf die vorhandenen Proben aus den Mm. adductores zurückgegriffen.

Da die Entnahme von mehreren Fleischproben stets mit einem destruktiven Eingriff verbunden war, waren die zusätzlich durchgeführten Messungen zur Fleischqualität auf leicht zugängliche Stellen beschränkt.

Eine Übersicht über das verfügbare Material ist in Tabelle 3 für die Proben von Haustieren und in den Tabellen 4 und 5 für die von Wildtieren vorgenommen worden.

Tab. 3: Übersicht Untersuchungsmaterial Haustiere

Tierart	Untersuchungszahlen Reifung[1]	Muskel[2]	Alter[3]	Entnahmestellen Diaphragma Pars musc.	M. longissimus dorsi	Mm. adductores	Mm. rhomboidei
RIND	18						X
		18		X	X	X	X
			5			X	
Kälber			5			X	
SCHWEIN	18 + 3					X	X
		18		X	X	X	X
			5			X	
Ferkel			5			X	

Herkunft aller Proben: Schlachthof Berlin - Spandau

[1] Untersuchung des Reifungsverlaufes über 7 Tage

[2] Vergleich verschiedener Muskelproben

[3] Vergleich verschieden alter Tiere

Tab. 4 : Übersicht Untersuchungsmaterial Wildtiere

Tierart	Herkunftsort	Untersuchungszahlen				Entnahmestellen		
		Reifung[1]	Muskel[2]	Alter[3]	Gatter Wildbahn[4]	Diaphragma Pars musc.	Mm. adductores	Mm. pectorales
SCHWARZ-WILD	Forstämter Berlin	20					X	
			17			X	X	X
				7			X	
					4		X	
	Wildimportfirma		7			X		X
DAMWILD	Forstämter Berlin	6					X	
			-	-				
					2		X	
	Wildbahn Märfelden	7					X	

[1] Untersuchung des Reifungsverlaufes über 7 Tage

[2] Vergleich verschiedener Muskelproben

[3] Vergleich verschieden alter Tiere

[4] Vergleich der Einflüsse durch Gatter- bzw. Wildbahnhaltung

Tab. 5: Übersicht Untersuchungsmaterial Wildtiere

Tierart	Herkunftsort	Untersuchungszahlen Reifung[1]	Muskel[2]	Entnahmestellen Diaphragma Pars musc.	Mm. adductores	Mm. pectorales
REHWILD	Forstämter Berlin	6			X	
			4	X	X	X
	Wildimportfirma		13	X		X
ROTWILD	Forstämter Berlin	3	1		X	
	Wildimportfirma		8	X		X

[1]Untersuchung des Reifungsverlaufes über 7 Tage

[2]Vergleich verschiedener Muskelproben

C. 1.2. Geräte und Hilfsmittel für geprüfte Fleischqualitätsparameter

C. 1.2.1. Temperaturmessung

Temperaturmeßgerät Technoterm 1500
Einstichelektrode mit Thermoelement Typ 2515/811, Fa. Technoterm

C. 1.2.2. pH - Messung

Artikel	Firma	Artikelbezeichnung
Digital - pH - Meter	Knick	Portamess
Schott pH - Meter	Schott - Geräte	CG 727
Einstichelektrode	Ingold	406 - 146 - KN
Pufferlösung pH 6,865	"	9805
Pufferlösung pH 4,01	"	9863
KCl - Lösung 3 mol/l + AgCl	"	9811
Plastiktropfflasche mit dest. Wasser		
Zellstoff		

C. 1.2.3. Filterpapierpreßmethode zur Ermittlung des auspreßbaren Gewebewassers

Braunschweiger Gerät	Fa. Chiron	
Filterpapier	Schleicher & Schüll	Nr. 1117

sowie eine Schere, eine Pinzette, eine Stoppuhr und ein Kopierstift sowie das Schablonensystem nach REUTER (1982) in Form einer durchsichtigen Plastikfolie mit 13 numerierten Kreisen mit Durchmessern von 20 - 44 mm und einer Tabelle, in der die Ergebnisse der Quotientenbildung f/F (der ermittelten Schablonendurchmesser) abzulesen waren.

C. 1.3. Spezielle Geräte für die Probenaufarbeitung

50 ml Zentrifugengläser
Ultra- Turrax, Janke - Kunkel IKA - Werk Typ 18/ 10 mit Homogenisierstab
Labofuge 6000, Heraeus Christ
Eppendorf Reaktionsgefäße 3810 (Volumen 1 - 1,5 ml)
Gefriertrocknungsanlage GAMMA I, Fa. Christ, Osterode am Harz

C. 1.4. Geräte und Material für die isoelektrische Fokussierung

PAG - Platten:

Die verwendeten LKB Ampholine PAG - Plates (Fa. LKB, Gräfelfing) waren Polyacrylamid - Gelfertigplatten, die Ampholine - Trägerampholyte enthielten. Als pH - Bereich wurde 3,5 - 9,5, d.h. ein möglichst großer Bereich, ausgewählt.

Kenndaten der 1,0 mm dicken Gelfertigplatten waren:

Fläche:	245 x 110 mm	Gelkonzentration T:	5 %
Geldicke:	1 mm	Vernetzung:	3 %
mögliche Probenzahl:	24	Trägerampholytkonzentration:	2,4 %

Elektrodenstreifen, Filterpapierplättchen, Schablonenunterlage, Abdeckfolien sowie leere Elektrolytlösungsflaschen standen mit jeder Plattenlieferung zur Verfügung.

Bei 0,5 mm dicken Platten betrug die Trägerampholytkonzentration 3,0 %.

Arbeitsgeräte:

Umlauf - Kyrostat LKB 2209 Multitemp,
Elektrophoresekammer LKB 2117 Multiphor I,
Gleichspannungs - Stromversorgungsgerät LKK 2103 Power Supply,
Färbeschale

Geräte zur Bestimmung der Oberflächen - pH - Werte:

Digital - pH - Meter (Knick Portamess 651)
Oberflächenelektrode (Ingold Typ Nr. 10 4033 131)
sowie Pufferlösungen und KCl - Lösung wie in C. 1.2.2. beschrieben

anzusetzende Lösungen bei 1,0 mm dicken Gelplatten:

Elektrolytlösungen

1 M NaOH 40 g NaOH ad 1000 ml Aqua bidest.

1 M H_3PO_4 63,6 ml H_3PO_4 (80 %) ad 1000 ml Aqua bidest.

Fixierlösung

57,5 g Trichloressigsäure p.A. Merck Art. 807
17,25 g 5-Sulfosalicylsäure p.A. Merck Art. 691
gelöst in 500 ml Aqua bidest.

Entfärbelösung

500 ml Methanol p.A. Merck Art. 6009
160 ml Essigsäure 96 % p.A. Merck Art. 62
ad 2000 ml Aqua bidest.

Färbelösung

460 mg Coomassie Brilliant Blue R - 250 Merck Art. 12553
gelöst in 400 ml Entfärbelösung
(zum einmaligen Gebrauch)

Konservierungslösung

40 ml Glycerin (Glycerol), wasserfrei, reinst., Merck Art. 4093
gelöst in 400 ml Entfärbelösung

anzusetzende Lösungen bei 0,5 mm dicken Gelplatten:

Elektrolytlösungen

1 M NaOH 2 g NaOH ad 50 ml Aqua bidest.
1 M H_3PO_4 2,8 ml H_3PO_4 (80 %) ad 50 ml Aqua bidest.

Fixierlösung

34,5 g Trichloressigsäure p.A. Merck Art. 807
10,4 g 5-Sulfosalicylsäure p.A. Merck Art. 691
gelöst in 300 ml Aqua bidest.

Entfärbelösung

500 ml Methanol p.A. Merck Art. 6009
160 ml Essigsäure 96 % p.A. Merck Art. 62
ad 2000 ml Aqua bidest.

Färbelösung

350 mg Coomassie Brilliant Blue R - 250 Merck Art. 12553
gelöst in 300 ml Entfärbelösung
(zum einmaligen Gebrauch)

Konservierungslösung

30 ml Glycerin (Glycerol), wasserfrei, reinst., Merck Art. 4093
gelöst in 300 ml Entfärbelösung

C. 1.5. Referenzsubstanzen zur Auswertung der Pherogramme

Hämoglobin und Myoglobin:

10 g Herzmuskulatur wurden mit 10 ml 0,01 M KCN homogenisiert und zentrifugiert (WYKLE et al., 1978). Diese Hämoglobin/ Myoglobinmixtur wurde dann fokussiert.

Des weiteren standen Hämoglobin - Referenzsubstanzen (Lyophilisate) der Fa. Serva, Heidelberg, zur Verfügung, die als Vergleichssubstanzen bei der isoelektrischen Fokussierung mitliefen.

Enzyme:

Zur Darstellung der Enzymbereiche bzw. -banden für die Laktatdehydrogenase, Malatdehydrogenase und Creatinkinase wurden Referenzsubstanzen (Lyophilisate) der Firmen Serva und Merck verwendet.

pI - Marker:

Zur Kontrolle des aufgebauten pH - Gradienten wurden sog. pI - Marker mit bekannten isoelektrischen Punkten eingesetzt. Zur Verfügung standen die Proteintestmischung Nr. 9 der Fa. Serva, Heidelberg, und der Isoelectric Focussing broad pI Calibration Kit, Fa. Pharmacia, Freiburg.

Liste der Referenzsubstanzen:

Hämoglobin vom Schwein	Serva 24.500
Hämoglobin vom Rind	Serva 24.490
Creatinkinase aus Schweineherz	Serva 27.301
Malatdehydrogenase aus Schweineherzmitochondrien	Serva 28.346
Laktatdehydrogenase aus Schweinemuskel	Merck Art. 5310
Proteintestmischung Nr. 9	Serva 39.206
pI Calibration Kit Isoelectric Focussing broad pI Kit pH 3 - 10	Pharmacia 17-0471-01

C. 1.6. Geräte für die Densitometrie

Für die Densitometrie wurden der Camag Elektrophorese - Scanner (Camag, CH Muttenz) zum Ablesen und der LKB Bromma 2210 - 2 - Channel Recorder zum Aufzeichnen benutzt.

C. 1.7. Material und Geräte für die Eiweißbestimmung mittels der Biuret - Methode

Reagenzien:

1. Test - Kombination "Gesamt - Eiweiß"
   Best. Nr. 124 281 für 2 x 500 ml, Boehringer Mannheim
   Inhalt: 1. Biuret - Reagenz ≙ Lösung 1

NaOH	0,1	N
K - Na - Tartrat	16	M
KJ	15	M
Kupfersulfat	6	M

   Inhalt der 100 ml Flasche wurde mit 400 ml dest. Wasser verdünnt.

   2. Leerwert - Reagenz ≙ Lösung 2

NaOH	0,1	N
K - Na - Tartrat	16	M

   Inhalt der 100 ml Flasche wurde mit 400 ml dest. Wasser verdünnt.

   3. Standard

Eiweiß	60	g/ l	oder 60 g/ l

   Inhalt wurde unverdünnt verwendet.

2. Precinorm U zur Qualitätskontrolle
   Best. Nr. 171 735, boehringer mannheim
   Inhalt: Gesamt Eiweiß Biuret mit Proben - Leerwert
   45,6 - 55,8 g/ l

   Biuret ohne Proben - Leerwert
   46,6 - 57,0 g/ l

   Die Precinormflasche wurde vorsichtig geöffnet und das Lyophilisat mit genau 5 ml bidest. Wasser verdünnt. Nach Verschluß der Flasche ließ man die Mischung 30 Min. unter leichtem Schwenken lösen. Nach Entnahme der erforderlichen Menge war der Rest bei - 20° C 1 Monat haltbar.

Arbeitsgeräte:

- Einmal-Küvetten, Greiner Labortechnik, Nürtingen, 10 x 10 x 45
- Eppendorf - Pipette, Typ 3130, 50 µl

- Oxford Lab. Pipettor 117 95 61 A 400/461, 0 - 10 ml
- Zeiss System Photometer PMQ 3

C. 1.8. Material und Geräte für die Hämoglobin - Bestimmung

Reagenzien:

Testomar - Hämoglobin Combipack 4 x 200 m
Best. Nr. OSOC 10: Packung für 4 x 100 bzw. 4 x 200 Makro - Ansätze, Behring

Inhalt: 1. Farbreagenz
Das Pulver in dem Fläschen 1 enthielt das giftige Cyanid.

2. Detergenz
Dieses war unverdünnt zu verwenden.

3. Hämoglobin - Reagenz
Der Inhalt des Fläschens 1 wurde mit 500 ml dest. Wasser gelöst. 1,0 ml Detergenz aus dem Fläschen 2 wurde zugesetzt. Die Lösung wurde in einer braunen Flasche gut verschlossen aufbewahrt.

Das Reagenz enthielt dann:

Kaliumhexacyanoferrat (III)	0,607 M
Kaliumcyanid	0,707 M
Kaliumdihydrogenphosphat	1,03 M
Detergenz	0,05 %

Arbeitsgeräte:

- Einmal-Küvetten, Greiner Labortechnik, Nürtingen, 10 x 10 x 45
- Eppendorf - Pipette Typ 3130, 10 µl
- Gilson Pipetman P 5000, 1 ml - 5 ml
- Zeiss System Photometer PMQ 3

C. 2. Methodik

C. 2.1. Ermittlung des Reifungszustandes des Fleisches

Bei der Probenahme wurden zusätzliche Untersuchungen, wie Temperaturmessung, pH - Messung und Ermittlung des ungebundenen Wassers, vorgenommen, um Anhaltspunkte über die postmortalen Veränderungen des zu untersuchenden Fleisches zu erhalten.

C. 2.1.1. Temperaturmessung

Bei Rind und Schwein erfolgten die Messungen direkt nach der Schlachtung. Beim Rind wurde am hängenden Tierkörper im M. longissimus dorsi in Höhe des 7. - 9. Brustwirbels gemessen. Die Messung in den Mm. adductores konnte wegen der Höhe des hängenden Tieres technisch nicht durchgeführt werden. Bei allen anderen Tieren wurden die Mm. adductores zur Messung herangezogen, hier erfolgte der Einstich 5 cm über der Beckensymphyse.
Bei den Wildteilstücken der Wildimportfirma erfolgte die Messung in den Mm. pectorales.

Der Temperaturfühler wurde 10 cm tief eingestochen und der digital angezeigte Wert abgelesen.

C. 2.1.2. pH - Messung

Die Meßstellen der Temperaturmessung wurden auch bei der pH - Messung angewandt.

Die Elektrode wurde von oben nach unten eingestochen, um einer Luftblasenbildung und einem unkontrollierten Abfluß der Flüssigkeit aus der Elektrode vorzubeugen. Bei der Messung mußte stets ein einwandfreier Kontakt zwischen der Glaselektrode und der Fleischfläche bestehen.

Jede Messung wurde wiederholt (mind. 2 Meßwerte); erst nach Stillstand der Digitalanzeige bzw. der Anzeigenadel wurden die Meßwerte abgelesen, aus denen der arithmetische Mittelwert gebildet wurde. Zwischen den Messungen wurde die Elektrode jeweils mit dest. Wasser abgespült und mit Zellstoff getrocknet.

C. 2.1.3. Filterpapierpreßmethode zur Ermittlung des ungebundenen Wassers

Das zu untersuchende Fleischstück wurde frisch eingeschnitten und ein ca. erbsengroßes, möglichst fett-, blutgefäß- und bindegewebsfreies Teil abgetrennt. Die Probe wurde auf das Filterpapier gelegt und zwischen den Plexiglasplatten zu einem dünnen Fleischfilm 5 Minuten lang gepreßt. Das Kompressorium wurde so geöffnet, daß die Fleischprobe mit dem Filterpapier an der obenliegenden Plexiglasplatte haftenblieb. Diese wurde gegen das Licht gehalten, um die Ränder der Fleisch- und Saftflächen mit dem Kopierstift zu markieren. Der Fleischfilm und das Filterpapier wurden getrocknet.
Durch Auflegen der Schablone konnten die entsprechenden, numerierten Kreisgrößen ermittelt werden. Aus den Zahlen wurde der Quotient (Q= f/F) gebildet und das Ergebnis in der Tabelle abgelesen.

C. 2.2. Herstellung der Extrakte für Reihenuntersuchungen

Bis auf die Proben, die in Reihenuntersuchungen definierten Reifungsbedingungen (8 Tage bei + 4° C) unterworfen werden sollten, wurden alle Einzelproben unmittelbar, d.h. bis ca. 1 Stunde nach Entnahme, auf 5 g abgewogen und bei - 20° C eingefroren.

In Anlehnung an die Methodensammlung zum § 35 LMBG bzw. an die Aufarbeitungsmethode nach KAISER (1980) wurden die Proben wie folgt aufgearbeitet:
Die Einzelprobe wurde angetaut und mit der Schere in kleine Stücke zerschnitten und in ein mit 5 ml dest. Wasser gefülltes 50 ml - Zentrifugenglas übergeführt. Diese Mischung wurde 3x 10 sec. oder 2 x 15 sec. = 30 sec. lang mit dem Ultra - Turrax homogenisiert. Dabei durfte die Mischung sich nicht zu stark erwärmen. Nach dem Homogenisieren wurden die Mischungen 30 min. bei 4000 U/ min. zentrifugiert. Die Überstände wurden in Eppendorf Reaktionsgefäße, möglichst pro Probe 2 - 3 Stück, abgegossen und bei - 20° C tiefgefroren.

Die zu lyophilisierenden Fleischextrakte wurden in Ampullen gefüllt und der Flüssigkeitsstand an der Ampulle markiert. Die Ampullen wurden im Alkoholsolebad der Gefriertrocknungsanlage GAMMA I bei - 60° C voreingefroren. Danach wurden die Ampullen an den Rechen bei 0,001 Torr gesteckt. Getrocknet wurde bei - 60° C. Die Ampullen wurden nach 18 Stunden unter Vakuum abgeschmolzen. Vor dem Gebrauch der Lyophilisate wurden die Ampullen aufgebrochen und bis zur Marke mit Aqua bidest. aufgefüllt.

C. 2.3. Elektrofokussierung

1,0 mm dicke Ampholine PAG - Platten:

Vor dem Beginn der Vorfokussierung mußte die Kühlplatte des Multiphors auf + 10° C heruntergekühlt werden. Auf die gekühlte Platte träufelte man eine Kontaktflüssigkeit, z.B. Kerosin. Darauf wurde luftblasenfrei (!) die Schablone gelegt, die wiederum mit Kerosin beträufelt wurde. Die verpackte Gelfertigplatte wurde aus dem Kühlschrank genommen und die Verpackung an ihren Rändern aufgeschnitten. Ein Kontakt mit der Gelplatte war unter allen Umständen zu vermeiden (Einmalhandschuhe schützten die Hände vor einer Berührung). Die Plastikfolie wurde entfernt und die Gelplatte ebenfalls luftblasenfrei auf die Schablone innerhalb der vorgesehenen Felder gelegt, dabei sollte die Gelplatte an ihren Enden bzw. Ecken nicht zu stark gezerrt werden.
Die Filterpapierstreifen wurden mit den Elektrolytlösungen gleichmäßig getränkt und in die entsprechend markierten Anoden- bzw. Kathodenräume gelegt. Die über diese Räume hinausragenden Streifenenden wurden mit der Schere abgeschnitten. Der Elektrofokussierdeckel wurde sorgsam aufgelegt. Die Elektrodendrähte mußten auf den Elektrodenstreifen liegen, die Kabelenden des Elektrofokussierdeckels wurden auf die entsprechenden Buchsen aufgesteckt und der Stromkreislauf durch Auflegen des Schutzdeckels auf die Multiphorkammer geschlossen.

Für die Vorfokussierung und Fokussierung wurden am Gleichspannungs - Versorgungsgerät die gewünschten Werte eingestellt:

Leistung (W): 30
Strom (mA): 50
Spannung (V): 1500

Bei gleichbleibender Leistung von 30 Watt begrenzten sich gemäß dem Ohmschen Gesetz die beiden anderen Komponenten.

Die Vorfokussierung dauerte eine Stunde, danach wurde das Versorgungsgerät ausgeschaltet; der Schutz- und der Elektrofokussierdeckel wurden abgenommen. Jeweils ein Filterpapierplättchen (5 x 10 mm) wurde in eine Extraktlösung bzw. Referenzlösung getaucht und das vollgesogene Papier (15 µl) mittels einer Pinzette auf die gewünschte Position 5,5 der Schablone gelegt. Die Lösungen mußten salzfrei sein, da vorhandene Ionen den Gradienten stören.

Die Fokussierung dauerte 1 1/2 Stunden. Nach einer 1/2 Stunde wurde sie zum 1. Mal unterbrochen, um die Filterpapierplättchen, die bis dahin das Gemisch abgegeben hatten, abzunehmen. Ein längeres Verbleiben hätte zu einer Wiederaufnahme des Gemisches und neben dem sog. Tailing (Schwanzbildung) zu einer oft irreversiblen Beeinflussung des pH - Gradienten an dieser Stelle geführt. 10 Minuten vor dem Ende der Fokussierung wurde zum 2. Mal unterbrochen, um mittels einer Oberflächenelektrode und eines vorher geeichten pH - Gerätes die pH - Werte an bestimmten Stellen auf der Geloberfläche zu bestimmen.

Nach Beendigung der Fokussierung wurden die Elektrodenstreifen entfernt, die Gelplatte auf den Plattenträger der Färbeschale gelegt sowie die Fixierlösung hinzugekippt.

Nach 1 Stunde Fixieren wurde die Gelplatte 5 Minuten lang in eine Entfärbelösung gelegt. Nach Entfernen dieser Lösung wurde die Gelplatte 10 Minuten lang in einer bis auf 80° C erhitzten Färbelösung gefärbt.

Nach der Färbung wurde die Gelplatte dreimal für je 5 Minuten in eine jeweils neue Entfärbelösung gelegt. Dabei wurde die Geloberfläche vorsichtig mit nassem Zellstoff abgewischt, und zwar solange, bis am Zellstoff keine Farbspuren mehr sichtbar waren. Die Färbeschale wurde währenddessen leicht gekippt.

Die Konservierungslösung ließ man eine Stunde auf die Gelplatte einwirken. Danach wurde die Gelplatte mit der Plastikfolie nach unten auf eine Glasplatte gelegt und das Gel über Nacht getrocknet. Am nächsten Tag wurde eine Konservierungsfolie auf die klebrige Geloberfläche aufgerollt. Die Gelunterseite (Plastikseite) wurde zusätzlich mit Methanol von verbliebenen Farbresten vorsichtig gesäubert.

0,5 mm dicke Ampholine PAG-Platten:

Die einzelnen Arbeitsschritte entsprachen denen bei Anwendung 1,0 mm dicker Gelplatten. Es waren lediglich andere Zeiten zu beachten und Werte einzustellen.

Vorfokussierung:	10 min.	Werte für den Gleichspannungsversorger	
Fokussierung:	50 min.	Leistung (W):	25
		Strom (mA):	50
Kühltemperatur:	+ 10° C	Spannung (V):	2000

C. 2.4. Densitometrie

Gemessen wurde mit dem Durchlichtverfahren (Transmission). Mit dem Wählschalter wurde die Vorschubgeschwindigkeit eingestellt, sie sollte mit der des Schreibers übereinstimmen. Am Schreiber wurden die Geschwindigkeit des Papiervorschubes und die Spannung, d.h. die Stärke des Ausschlages, eingestellt.

Die auf vier bis sechs Meßbahnen (Pherogramme) zurechtgeschnittene Gelplatte wurde so in den Probenhalter auf den Meßtisch gelegt, daß der Spalt auf den Beginn der ersten Meßbahn gerichtet war. Durch den Begrenzungsschalter konnte die Länge des Weges bestimmt werden. Nachdem der Scanner die erste Meßbahn abgefahren hatte, konnte der Spalt auf die nächste Meßbahn eingestellt werden.

C. 2.5. Auswertung und Darstellung der Ergebnisse der Elektrofokussierung

Die Auswertung der fokussierten Proben erfolgte visuell und wurde immer von derselben Person vorgenommen.
Bei der Ergebnissuche wurden nur die Banden bzw. Unterschiede zwischen den Banden der Pherogramme betrachtet und berücksichtigt, die qualitativ und deutlich quantitativ erkennbar sowie reproduzierbar waren.
Für jede Fragestellung bzw. jede Tierartgruppe (Siehe Untersuchungsmaterial!) wurde für die Darstellung ein repräsentatives Beispiel ausgewählt. Die Pherogramme wurden photographisch festgehalten und dargestellt. Die Unterschiede wurden mit Balken bzw. Querstrichen auf den Pherogrammphotos bzw. in einigen Fällen auch seitlich daneben gekennzeichnet. Alle Ergebnisse sind auf derselben Seite tabellarisch zusammengefaßt. Bis auf 2 eindrucksvolle Beispiele wurde auf eine densitometrische Darstellung verzichtet. Auf den Densitogrammen wurden die Unterschiede zur schnelleren Orientierung mit Strichen kenntlich gemacht. Die Densitometrie konnte die visuell festgestellten Ergebnisse lediglich bestätigen, sie brachte keine zusätzlichen Aussagen. Des weiteren erhielt man beim Abscannen des gesamten pH - Bereiches 3,5 - 9,5 eine derart große Zahl von Peaks, daß deren Vergleich mit den Peaks anderer Pherogramme selbst bei geübten Personen zu Schwierigkeiten beim Ansprechen der einzelnen Peaks und Vergleich dieser führte.
Die in den Pherogrammabbildungen angegebenen pH - Werte stellen keine fixen Werte dar, an denen die Banden zu finden sind. Sie sollen lediglich als Anhaltspunkte dienen. Vielmehr schwanken die Banden von Platte zu Platte um diese Werte.

C. 2.6. Eiweißbestimmung mittels der Biuret - Methode und Leerwertkorrektur

Da die Fleischextrakte nicht klar waren, wurde der folgende Weg und damit eine Korrektur durch eine Leerwertbestimmung beschritten:

In die Einmalküvette waren zu pipettieren

Extrakte, Kontrollseren, Standards	0,05 ml	dto.	0,05 ml
Lösung 1	2,5 ml	Lösung 2	2,5 ml

mischen und 30 min. lang bei 20 - 25° C inkubieren

Extinktion der Probe gegen Lösung 1 als Reagenzienleerwert messen	Extinktion der Probe gegen 2,5 ml bidest. Wasser als Reagenzienleerwert messen

Wellenlänge Hg 546 (530 - 570 nm)

erhaltenen Extinktionswert Lösung 1 - erhaltenen Extinktionswert Lösung 2

= Extinktion Endergebnis

Nach der Formel $c = 19 \times E_{Pr}$ (für g/ dl) bzw. $c = 190 \times E_{Pr}$ (für g/ l) wurde die Konzentration c berechnet.

C. 2.7. Hämoglobin - Bestimmung und Hämoglobin - Korrektur des Gesamteiweißes

Zur Bestimmung (Verdünnung 1 : 251) wurde wie folgt pipettiert:

Hämoglobin - Reagenz	2,50 ml
Fleischextraktprobe	0,01 ml

Danach wurde sofort kräftig geschüttelt. Nach mind. 3 Minuten Inkubation bei + 20 bis + 25° C konnte die Probe gegen das Hämoglobin - Reagenz als Reagenzien - Leerwert (E = 0) gemessen werden.
Die Berechnung der Hämoglobin - Konzentration (g/ l) erfolgte nach der Formel: $C = E_{Pr} \times 368$.

Korrektur des nichtkorrigierten Eiweißwertes (Lösung 1, Biuret)

Die Biuret - Farbe, die von 1 mg Hämoglobin produziert wird, täuscht einen Eiweißgehalt von 1,9 mg vor.
Der vorgetäuschte Gehalt war vom gemessenen Gesamt - Eiweiß (Biuret - Methode, Lösung 1) gemäß der folgenden Formel abzuziehen:

$$\frac{\text{Totalprotein} - \text{Hämoglobin } C_{Hb} \times 1{,}9}{\text{korrigiertes Gesamteiweiß ohne Hämoglobin}}$$

Die Konzentration des Hämoglobin mußte wieder hinzugerechnet werden, um den wahren Gesamteiweißgehalt zu erhalten (Sigma Techn. Bulletin No. 540 (74)):

$$\frac{\text{korrig. Totalprotein} + \text{Hämoglobin - Konzentration}}{\text{wahres Gesamt - Eiweiß}}$$

C. 2.8. Modellversuche zur Frage einer eventuell notwendigen Eiweißeinstellung bei der Fokussierung

Fokussierung mit eingewogenen Eiweißkonzentrationen

Vor Beginn der Untersuchungen war die Frage der Proteineinstellung bei der Fokussierung von großer Bedeutung. Wichtig war es daher, die Aufnahmekapazität bzw. die Gefahr einer Überladung bei den einzelnen Gelstärken, zu überprüfen. Zum anderen war es von entscheidender Tragweite, ob Banden eines Proteingemisches bei abnehmenden Konzentrationen beim Fokussieren verschwanden. Deshalb wurde die Proteintestmischung Nr. 9 von Serva eingewogen, und zwar in den Konzentrationsbereichen, in denen sich auch die Fleischextrakte bewegten. Fokussiert wurden alle Konzentrationen 50/ 40/ 30/ 20/ 10/ 5 mg/ ml auf 1 mm und 0,5 mm dicken LKB Ampholine PAG-Platten.

Fokussierung nicht eingestellter und auf 1 % = 10 mg/ ml eingestellter Muskelextrakte

Im Laufe der Untersuchungen wurden stichprobenartig Vergleiche zwischen Pherogrammen nicht eingestellter und eingestellter Muskelextrakte durchgeführt.

Eiweißbestimmung

Von den zur Verfügung stehenden Eiweißbestimmungsmethoden dürfte lediglich das Biuret - Verfahren aufgrund seiner kurzen Bestimmungsdauer in der Routine zur Anwendung kommen. Dieses Verfahren ist aber mit einigen Nachteilen behaftet, denn viele Extrakte fielen schon aufgrund ihrer Färbung auf. Färbung und Trübung dürften jedoch die Bestimmung des Eiweißgehaltes mittels der photometrischen Messung, die auf einer Farbzunahme basiert, erheblich stören. Unkorrigierte Eiweißgehalte mit relativ hohem Hämoglobin- und Myoglobin - Anteil täuschen also höhere Eiweißkonzentrationen vor.
Daher wurde die Genauigkeit dieses Bestimmungsverfahrens zusammen mit einigen Korrekturverfahren (Blindwertbestimmung und Hämoglobin - Bestimmung) getestet, denn es sollte festgestellt werden, mit welcher Korrekturmaßnahme man in der Lage war, die tatsächlichen Eiweißgehalte zu erfassen.
Für die Bestimmungen wurden die Proteintestmischung Nr. 9 von Serva sowie eine Hämoglobin - Lösung vom Schwein, ebenfalls von Serva, in verschiedenen Konzentrationen eingewogen und bestimmt.

C. 3. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen

C. 3.1. Modellversuche zur Frage einer eventuell notwendigen Eiweißeinstellung bei der Fokussierung

Fokussierung mit abgestuften Eiweißkonzentrationen

Sowohl auf 1 mm als auch auf 0,5 mm dicken Gelen ging bei unterschiedlichen Eiweißkonzentrationen von 50 bis 5 mg/ ml keine Bande verloren, einige Banden nahmen lediglich in ihrer Intensität etwas ab, das Pherogramm bzw. das Verhältnis der einzelnen Banden zueinander änderte sich jedoch nicht. Es konnten Überladungen bei den hohen Konzentrationen 50 und 40 mg/ ml auf den 0,5 mm dicken Gelen festgestellt werden (Abb. 2).

Fokussierung nicht eingestellter und auf 1 % = 10 mg/ ml eingestellter Muskelextrakte

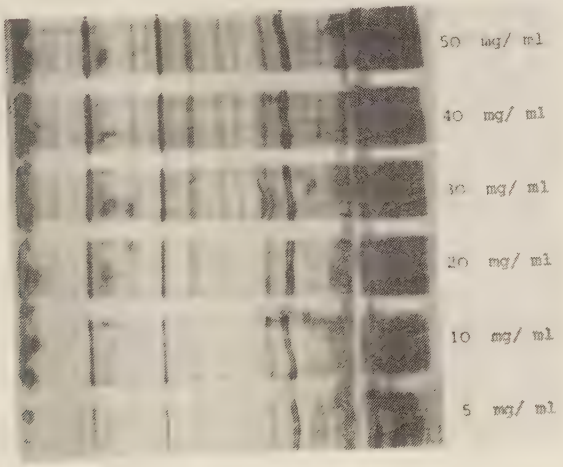
Die bei den nicht eingestellten Muskelextrakten festgestellten Unterschiede zeigten sich auch bei den eingestellten Muskelextrakten.

Eiweißbestimmung

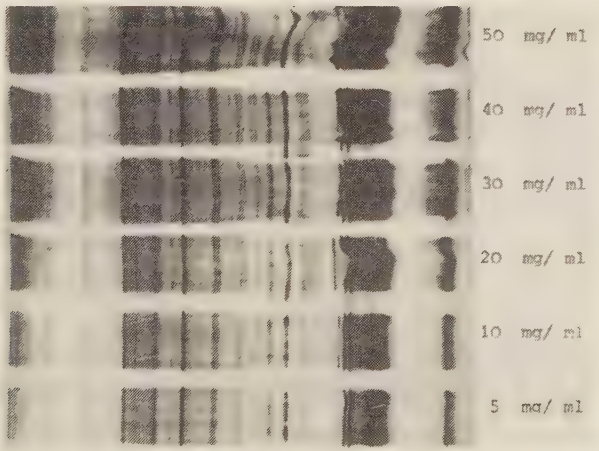
Bei der einfachen Bestimmung (Lösung 1: Biuret - Reagenz) sowie der Blindwertbestimmung (Lösung 1 - Lösung 2) fiel innerhalb der Dreifachbestimmung bei einigen Proben eine große Schwankungsbreite auf.
Bei der Proteintestmischung von Serva zeigte sich jedoch, daß die Ergebnisse des Biuret - Verfahrens die eingewogenen Konzentrationen bestätigten, während beide Korrekturverfahren, vor allem in den Bereichen 20 - 50 mg/ ml geringere Konzentrationen anzeigten (Tab. 6).
Bei der Bestimmung der eingewogenen Hämoglobingemische lagen die Ergebnisse beim Biuret - Verfahren deutlich über den eingewogenen Konzentrationen. Die Ergebnisse der Korrekturbestimmungen lagen in den Bereichen 100 mg/ ml und 50 mg/ ml immer niedriger. Lediglich in den Bereichen 10 mg/ ml und 5 mg/ ml erreichten die Werte, wenn auch nur annähernd, die eingewogenen Werte (Tab. 7).

Abb. 2 : VERGLEICH verschiedener Konzentrationen der Serva Proteinmischung 9 auf LKB PAG - Platten verschiedener Gelstärken

Platte 1: Gelstärke 1,0 mm



Platte 2: Gelstärke 0,5 mm



Tab. 6 : Ergebnisse der Eiweißbestimmung mittels Biuret - Methode (Dreifachbestimmung), Leerwertkorrektur (Dreifachbestimmung) und Hämoglobinkorrektur (Einfachbestimmung) von eingewogenen Proteintestmischungen (Serva)

Konzentration	Biuret - Methode				Leerwert - Korrektur				Hb-Korrektur
	1	2	3	$\bar{x}$	1	2	3	$\bar{x}$	
50 mg/ ml	44,84	48,26	43,70	45,60	27,55	30,78	23,75	27,36	32,92
40 mg/ ml	42,37	44,08	41,42	42,62	24,32	26,98	27,17	26,16	23,16
30 mg/ ml	27,93	29,26	29,64	28,94	18,24	19,38	19,95	19,19	19,65
20 mg/ ml	19,19	19,76	19,76	19,57	12,35	12,73	13,68	12,92	13,89
10 mg/ ml	11,21	9,69	11,21	10,70	8,93	9,12	9,31	9,12	10,22
5 mg/ ml	6,84	6,46	6,65	6,69	4,75	5,70	5,70	5,40	2,21

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

Tab. 7 : Ergebnisse der Eiweißbestimmung mittels Biuret - Methode (Dreifachbestimmung), Leerwertkorrektur (Dreifachbestimmung) und Hämoglobinkorrektur (Einfachbestimmung) von eingewogenen Hämoglobinlösungen (Serva)

Konzentration	Biuret - Methode				Leerwert - Korrektur				Hb-Korrektur
	1	2	3	$\bar{x}$	1	2	3	$\bar{x}$	
100 mg/ ml	173,09	163,40	164,16	166,88	86,64	67,64	58,33	70,87	68,97
50 mg/ ml	65,17	88,16	116,66	89,99	10,45	41,23	65,74	39,13	-
10 mg/ ml	23,75	19,19	20,14	21,03	15,77	9,88	10,83	12,16	13,83
5 mg/ ml	8,74	10,64	7,39	9,06	6,43	8,74	5,13	6,77	3,61

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

C. 3.2. Ergebnisse der isoelektrischen Fokussierung

C. 3.2.1. Vergleich der Reifungsproben

Die Pherogramme der Reifungsproben waren qualitativ identisch, alle charakteristischen Proteinbanden waren vorhanden. Zwar waren geringfügige quantitative Unterschiede auszumachen; um diese als mögliche Hinweise auf Veränderung durch Reifungsabläufe deuten zu können, reichen diese Änderungen nicht für eine sichere Interpretation aus und sind daher als nicht signifikant anzusehen. Die Konzentrationsänderungen fielen bei den Wildtieren schwächer aus. Auffallend war auch die geringe Zahl der Banden, die Veränderungen zeigten.

Rind

Die Pherogramme der Mm. rhomboidei vom Rind während der 8 - tägigen Reifung bei + 4° C nach der Schlachtung sind in Abbildung 3 dargestellt.

Hausschwein

In Abbildung 4 sind die Pherogramme der Mm. rhomboidei des Hausschweins bei einer Reifungsdauer von 8 Tagen und einer Temperatur von + 4° C dargestellt. In Abbildung 5 sind die Densitogramme der Pherogramme vom Schlachttag, 3. und 7. Reifungstag aufgeführt.

Bei der densitometrischen Bewertung wurden 5 Banden (Nr. 1 -5) am Schlachttag, 3. und 7. Reifungstag beobachtet. In der Abbildung 5 hat es zwar den Anschein, als würden diese Banden abnehmen, was jedoch visuell bei Betrachtung aller Reifungstage nicht bestätigt werden kann.

Wildschwein

Die Pherogramme der gereiften (8 Tage, + 4° C) Adduktorenmuskulatur des Wildschweines sind in Abbildung 6 dargestellt.

Rehwild

Zum Reifungsverlauf des Rehwildes konnte nur bei 4 Tieren Material aus der Adduktorenmuskulatur gewonnen werden. Die Pherogramme dieser gereiften Muskulatur sind in Abbildung 7 dargestellt.

Damwild

Bei allen untersuchten Tieren konnten weder eine Zunahme noch eine Abnahme visuell erkannt werden.
In Abbildung 8 sind lediglich die Pherogramme der gereiften Adduktorenmuskulatur dargestellt.

Rotwild

Es lagen keine Proben vor.

Abb. 3: REIFUNG - RIND: Mm. rhomboidei

ausgewähltes
Beispiel
Rd I 5

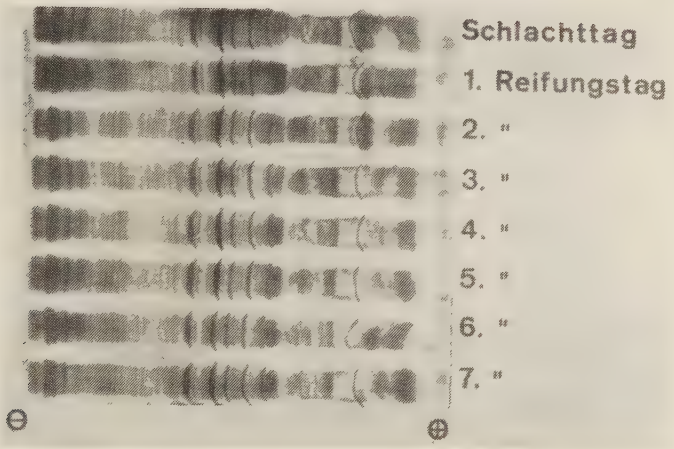


Abb. 4: REIFUNG - HAUSSCHWEIN:

Mm. rhomboidei

ausgewähltes Beispiel HS A 26

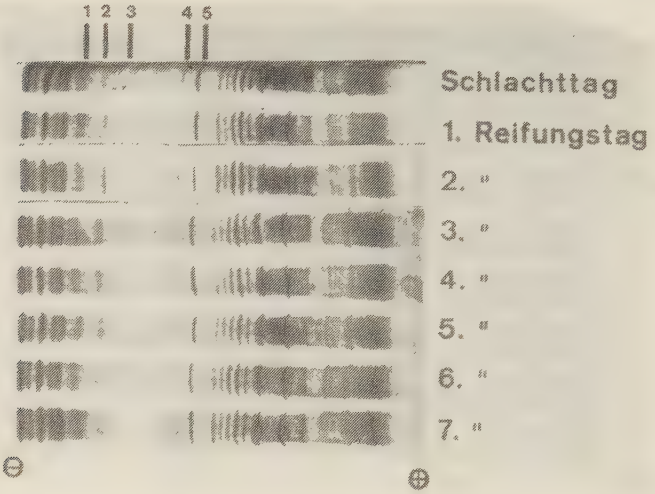
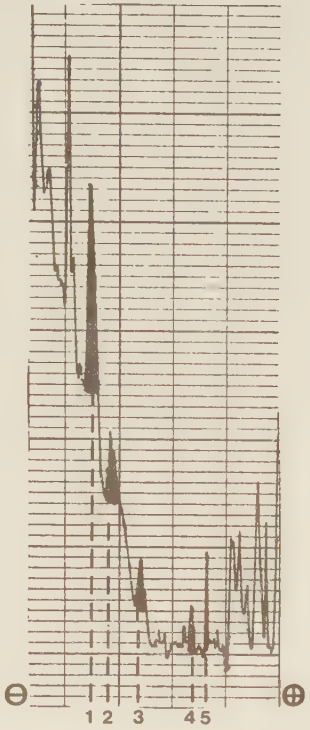


Abb. 5: DENSITOGRAMME

REIFUNG - HAUSSCHWEIN: Mm. rhomb.; pH-Ausschnitt 9,4 - 6,3

Schlachttag



3. Reifungstag

7. Reifungstag

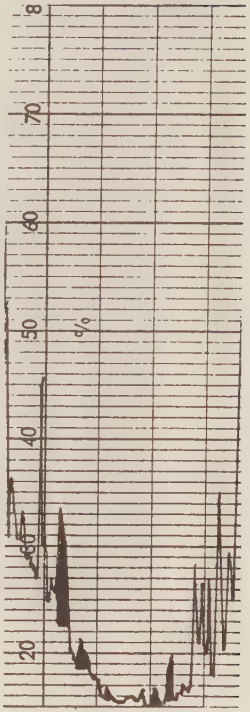


Abb. 6: REIFUNG - WILDSCHWEIN:

Mm. adductores

ausgewähltes Beispiel WS 55

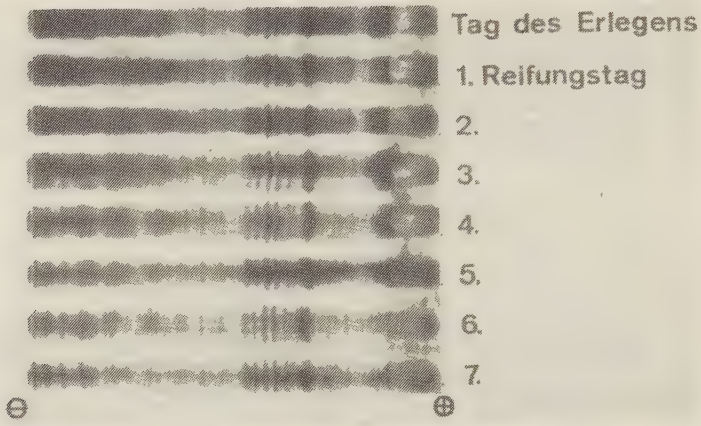


Abb. 7: REIFUNG - REHWILD:

Mm. adductores

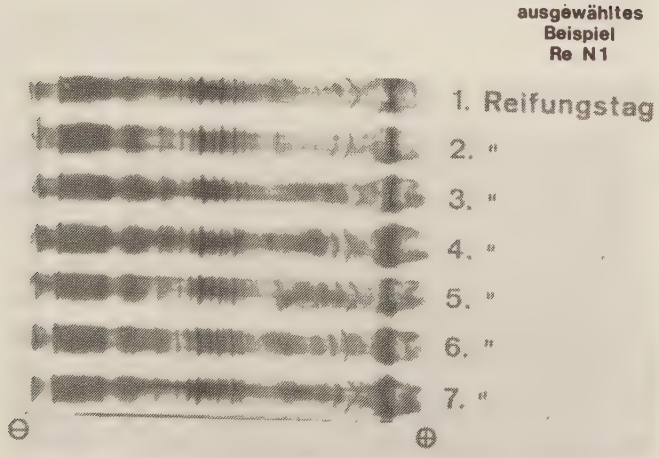
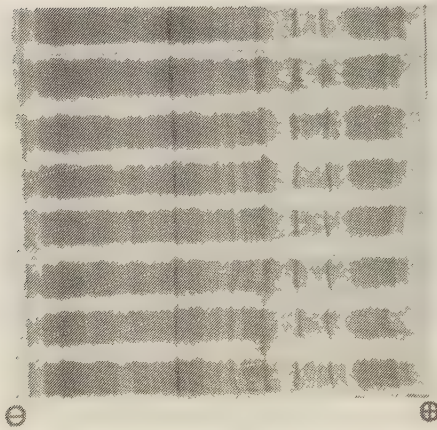


Abb. 8: REIFUNG - DAMWILD:

Mm. adductores

ausgewählites Beispiel Da 9

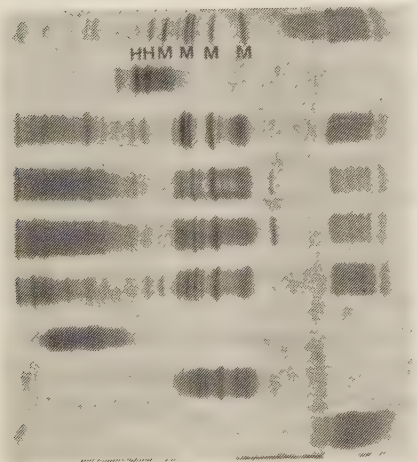


C. 3.2.2. Vergleich verschiedener Muskelproben

Ein Ziel der Untersuchung war der Vergleich zwischen roter/ dunkler und weißer/ heller Muskulatur. Deshalb wurden Hämoglobin- und Myoglobinbanden dargestellt sowie die Lösungen der Enzyme Laktatdehydrogenase, Creatinkinase und Malatdehydrogenase gesondert aufgetragen, und zwar exemplarisch beim Hausschwein.

Beim Vergleich verschiedener Muskeln ließ sich bei allen Tierarten ein Unterschied zwischen sogenannter roter/ dunkler (Diaphragma, Pars muscularis) und weißer/ heller (Mm. add. und long. dorsi) Muskulatur erkennen. Im weißen Muskel zeigten sich höhere Konzentrationen im alkalischen Bereich in der Zone der Laktatdehydrogenase und für den roten Muskel im sauren Bereich in der Zone der Malatdehydrogenase (Abb. 9). Kamm - Muskulatur (Mm. rhomboidei) zeigte die Pherogrammeigenschaften der roten Muskulatur. Auffallend waren auch die stärker konzentrierten Hämoglobin- und Myoglobinbanden bei der roten Muskulatur.
Als beiläufiger Befund dürfte die stark angefärbte MDH - Zone beim Herzmuskel betrachtet werden.

Abb. 9:



Schweineherzextrakt nach WYKLE, B. et al. (1978)
Hämoglobin - Lösung (Serva)
HS 21 Diaphragma Pars muscularis
M. longissimus dorsi
Mm. adductores
Mm. rhomboidei
Lösung der Laktatdehydrogenase vom Hausschwein (Serva)
Lösung der Creatinkinase vom Hausschwein (Serva)
Lösung der Malatdehydrogenase vom Hausschwein (Serva)

H Hämoglobin-/M Myoglobin - Banden

Berücksichtigt und dargestellt wurden, wie schon erwähnt, nur qualitative und deutlich quantitative Unterschiede. Beim Muskelvergleich war jedoch oft ein fließender Übergang zwischen qualitativ und quantitativ vorhanden, denn das menschliche Auge kann nicht unbegrenztauflösen. Daher waren oft keine objektiven Aussagen möglich, auch die Densitometrie trug zu keiner Klärung bei. So kann innerhalb eines Tierartkollektivs hinsichtlich des Unterschiedes einer Bande zwischen verschiedenen Muskeln durchaus der Begriff quantitativ und qualitativ nebeneinander stehen. Deshalb wurden in den meisten Fällen die Unterschiede eher als "mehr deutlich quantitativ" denn als "qualitativ" eingestuft.

Hausschwein

In Abbildung 10 sind die Pherogramme der vier beim Hausschwein untersuchten Muskeln: Diaphragma Pars muscularis, M. longissimus dorsi, Mm. adductores und Mm. rhomboidei und ihrer Unterschiede dargestellt.

Bei pH 8,0 und 6,3 trat bei weißer Muskulatur jeweils eine zusätzliche Bande auf. Bei 7,5; 7,2 und 7,0 war beim Diaphragma und den Mm. rhomboidei jeweils eine zusätzliche Bande vorhanden. Bei pH 7,0 zeigte sich bei einigen Tieren zwar kein qualitativer Unterschied, dafür aber ein äußerst starker quantitativer Unterschied. Bei pH 7,7 war beim Diaphragma und den Mm. rhomb. die Bande deutlich stärker konzentriert als bei den anderen Muskeln. Ein ähnlicher Unterschied zeigte sich bei den Banden bei pH 5,0 und 4,9, die bei der Pars musc. des Diaphragma und den Mm. rhomb. sich deutlicher darstellten.

Unterschiede in den Pherogrammen der vier Muskelproben zwischen Hausschweinen mit normaler und abweichender Fleischbeschaffenheit konnten nicht gefunden werden.

Wildschwein

Untersucht wurden die Pars musc. des Diaphragma, die Mm. pectorales sowie die Mm. adductores. Da die Pherogramme der Mm. pectorales und der Mm. adductores identisch waren, wurden aus

Vergleichsgründen mit dem Hausschwein nur die Pherogramme vom Diaphragma und den Mm. adductores dargestellt (Abb. 10).

Die beim Hausschwein deutlichen Unterschiede der Hämoglobin- und Myoglobinbanden bei pH 7,7; 7,5; 7,2 und 7,0 waren schwächer. Die Bande bei pH 8,0 war bei den Mm. adductores, die Bande bei pH 7,0 beim Diaphragma zusätzlich vorhanden. Die beim Hausschwein festgestellten Unterschiede bei pH 5,0 und 4,9 ließen sich auch beim Wildschwein finden.

Tierartendifferenzierung: Haus- und Wildschwein

In Abbildung 11 sind nochmals die Pherogramme der untersuchten Muskeln beider Tierarten dargestellt. Aus der Tabelle geht hervor, daß sich lediglich die zwei Banden 7,5 und 7,0 zur Trennung von Wild-/ Hausschwein anbieten. Es hat sich jedoch in der Routine gezeigt, daß sich die Bande bei pH 7,5 dazu besonders eignet.

Rind

Die Pherogramme der beim Rind untersuchten Muskelproben sowie die Unterschiede sind in der Abbildung 12 festgehalten. Die Densitogramme sind in den beiden Abbildungen 13 a + b aufgeführt.

Bei den Mm. adductores und dem M. longissimus dorsi waren die Banden bei den pH - Werten 8,8; 8,5; 8,1 und 7,9 stärker konzentriert als bei den Mm. rhomboidei und beim Diaphragma. Dagegen waren bei den letzteren die Banden bei den pH - Werten 8,2 und 7,5 stärker konzentriert. Bei pH 8,2 fanden sich statt der stärker konzentrierten Bande beim Diaphragma und den Mm. rhomboidei zwei schwächer konzentrierte Banden (Doppelbande) bei den Mm. adductores und dem M. longissimus dorsi. Bei pH 7,6 trat eine stärker konzentrierte Doppelbande beim Diaphragma und den Mm. rhomboidei auf.
Die stärker angefärbte MDH - Zone bei der roten Muskulatur, Pars musc. des Diaphragma und den Mm. rhomboidei, war zwischen pH 5,4 und 4,9 erkennbar, die stärker angefärbte LDH - Zone bei der weißen Muskulatur zwischen pH 9,5 und 7,9.

Rehwild

Es wurden die Muskeln Pars musc. des Diaphragma und die Mm. pectorales untersucht. Die Pherogramme sowie die Unterschiede zwischen den beiden Muskeln sind in der Abbildung 14 festgehalten.

Insgesamt waren nur zwei deutliche Unterschiede neben den jeweils stärker angefärbten MDH - (bei der Pars musc. des Diaphragma) und LDH - Zonen (Mm. pectorales) erkennbar.
Die Pars musc. des Diaphragma zeigte bei pH 7,5 eine stärker konzentrierte Bande als bei den Mm. pectorales. Diese wiesen bei pH 7,9 eine stärker konzentrierte Bande auf.

Rotwild

In Abbildung 15 sind die Pherogramme und die Unterschiede dargestellt.

Die Pars musc. des Diaphragma zeigte bei den pH - Werten 7,6; 7,2; 7,1 stärker konzentrierte Banden als bei den Mm. pectorales, diese dagegen zeigten bei pH 8,4 und 8,3 stärker konzentrierte Banden.
Die stärker angefärbte LDH - Zone bei den Mm. pectorales reichte von pH 9,5 bis 8,2, die stärker angefärbte MDH - Zone des Diaphragma von 5,4 bis 4,9 wie beim Rind.

Damwild

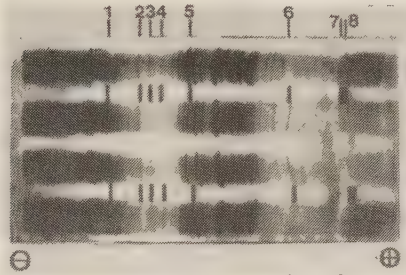
Es lagen keine Proben vor.

Muskelvergleich und Tierartendifferenzierung
Wiederkäuer (Rind, Reh- und Rotwild)

In der Abbildung 16 sind noch einmal alle untersuchten Muskeln der drei Tierarten Rind, Reh- und Rotwild mit Ausnahme der Mm. rhomboidei und des M. longissimus dorsi beim Rind dargestellt. Außerdem sind die Ergebnisse der Unterschiede dieser Tierarten zusammenfassend und vergleichend aufgeführt.
Die sogenannte Wiederkäuer - Bande ist bei allen drei Tierarten deutlich erkennbar, sie lag bei pH 5,9.

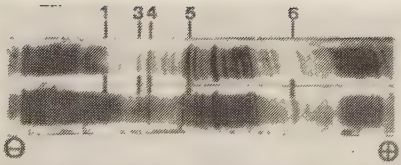
Abb. 10: MUSKELVERGLEICH

HAUSSCHWEIN



Mm. \ ~pH	9,5	8,2	8,0	7,7	7,5	7,2	7,0	6,3	5,0	4,9	4,3
			1	2	3	4	5	6	7	8	
Diaphr				■	■	■	■		■	■	– –
M. long	– –	– –	■	□				■	□	□	
Mm. add	– –	– –	■	□				■	□	□	
Mm. rho				■	■	■	■		■	■	– –

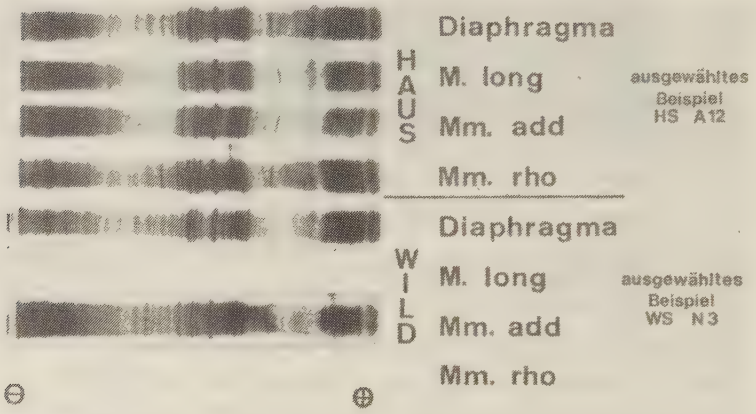
WILDSCHWEIN



Mm. \ ~pH	9,6	8,0	7,5	7,2	7,0	6,3	5,0	4,3
		1	3	4	5	6		
Diaphr		□	■	■	■	□	– –	– –
Mm. add	– –	■	□	□		■		

■ Bande vorhanden
□ Bande schwächer
– – Bereich stärker konzentriert

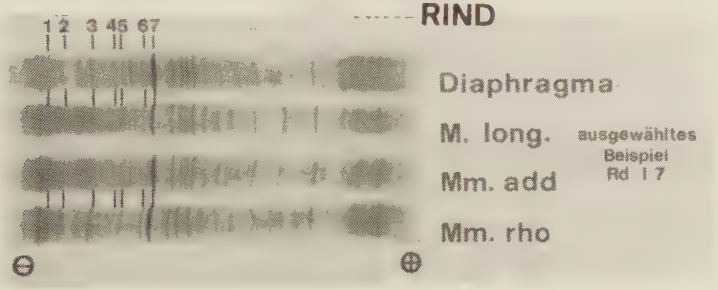
Abb. 11: MUSKELVERGLEICH und TIERARTENDIFFERENZIERUNG HAUS- und WILDSCHWEIN



	Mm. \ ~pH	9,5-8,2-8,0	7,7	7,5	7,2	7,0	6,3	5,0-4,9-4,3
HAUS	Diaphr		■	■	■	■		■ – ■ – –
	M. long	– – – – ■	□				■	□ □
	Mm. add	– – – – ■	□				■	□ □
	Mm. rho		■	■	■	■		■ – ■ – –
WILD	Diaphr		■	■	■	■	□	■ – ■ – –
	Mm. add	– – – – ■	□	□	□		■	□ □

■ Bande vorhanden
□ Bande schwächer
– – Bereich stärker konzentriert

Abb.12: MUSKELVERGLEICH



Mm. \ ~pH	9,3	8,8	8,5	8,2	8,1	7,9	7,6	7,5	5,8-4,9
	1	2	3	4	5	6	7		
Diaphr.			□	■	□	□	■■	■	– – – –
M. long	– –	■	■	⊟⊟	■	■	□	□	
Mm add	– –	■	■	⊟⊟	■	■	□	□	
Mm rho			□	■	□	□	■■	■	– – – –

■ Bande vorhanden
□ Bande schwächer
– – Bereich stärker konzentriert

Abb. 13a: DENSITOGRAMME
MUSKELVERGLEICH
RIND

pH - Ausschnitt 9,5 - 3,5

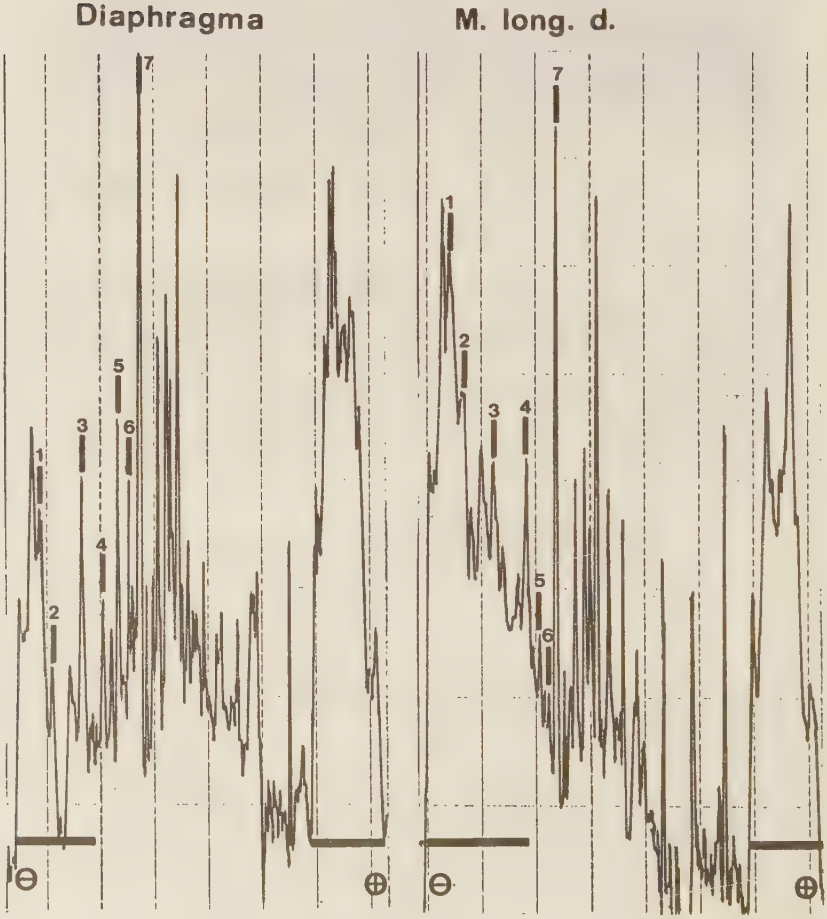


Abb. 13b: DENSITOGRAMME
MUSKELVERGLEICH
RIND
pH - Ausschnitt 9,5 - 3,5

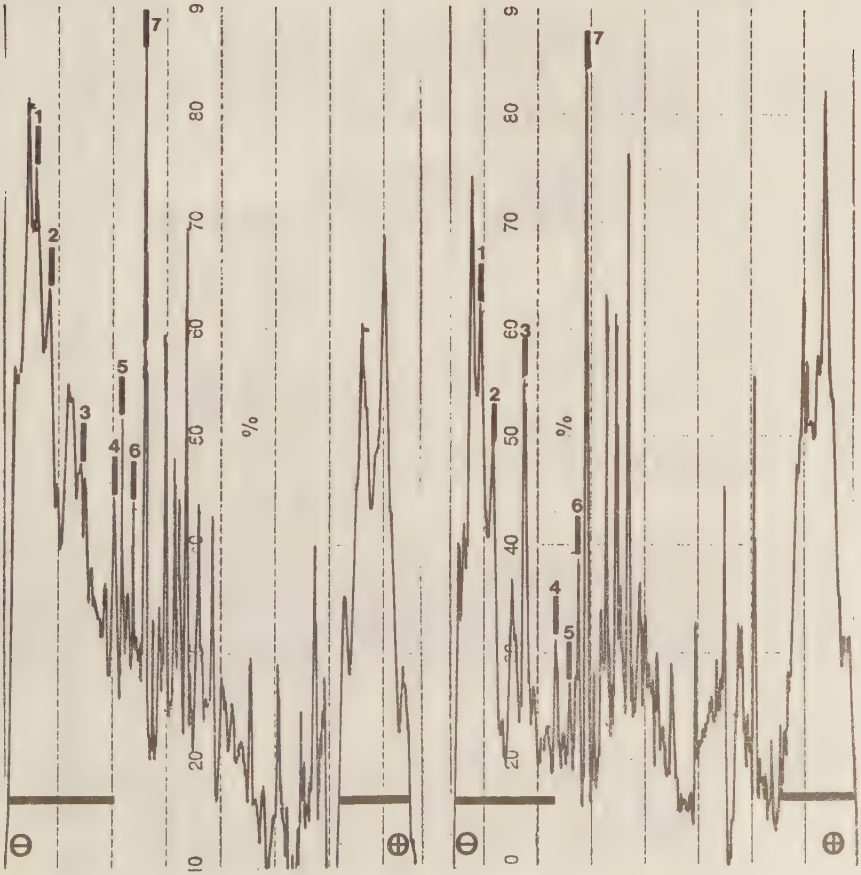
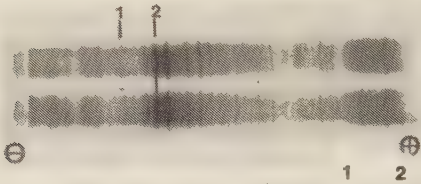


Abb. 14: MUSKELVERGLEICH

REHWILD

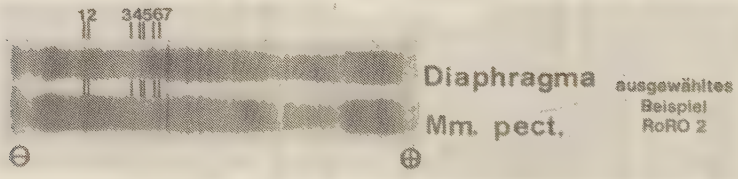


			1	2		
~pH / Mm.	9,5	8,2	7,9	7,5	5,4	4,9
Diaphr.			□	■	– –	– –
Mm. pect	– –	– –	■	□		

■ Bande vorhanden
□ Bande schwächer
– – Bereich stärker konzentriert

Abb. 15: MUSKELVERGLEICH

ROTWILD

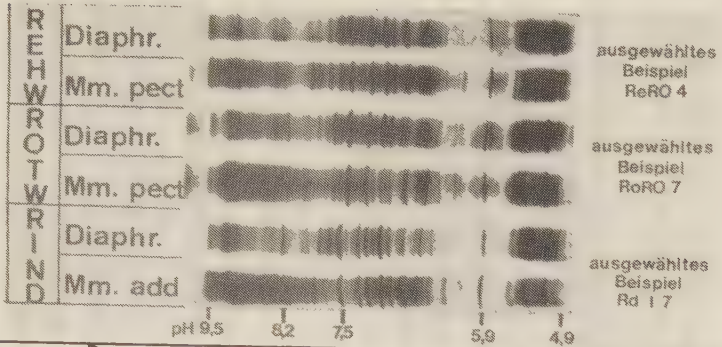


		1	2		3	4	5	6		
~pH / Mm.	9,6	8,4	8,3	8,2	7,8	7,5	7,2	7,1	5,4	4,9
Diaphr.		□	□		□	■■	■	■	– –	– –
Mm. pect	– –	■	■	– –	■	□□	□	□		

■ Bande vorhanden
□ Bande schwächer
– – Bereich stärker konzentriert

Abb. 16: MUSKELVERGLEICH und TIERARTENDIFFERENZIERUNG

WIEDERKÄUER



	Mm. \ ~pH	9,5	8,8	8,5	8,4	8,3	8,2	8,1	7,9	7,8	7,6	7,5	7,2	7,1	Wdk	5,9	5,4	4,9
RIND	Diaphr.		□	□			■	□	□		■■	■					– –	– –
	M. long	– –	■	■	– –	– –	⊟⊟	■	■		□	□						
	Mm. add	– –	■	■	– –	– –	⊟⊟	■	■		□	□						
	Mm. rho		□	□			■	□	□		■■	■					– –	– –
ROTW	Diaphr.				□	□				□		■■	■	■				
	Mm. pect	– –	– –	– –	■	■	– –			■		□□	□	□			– –	– –
REHW	Diaphr.								□			■						
	Mm. pect	– –	– –	– –	– –	– –	– –		■			□					– –	– –

■ Bande vorhanden
□ Bande schwächer
– – Bereich stärker konzentriert

C. 3.2.3. Vergleich verschieden alter Tiere

Wie beim Muskelvergleich gab es auch beim Altersvergleich fließende Übergänge zwischen qualitativen und deutlich quantitativen Unterschieden.

Rind/ Kalb

Die Pherogramme der Adduktorenmuskulatur von Kalb und Rind sind in der Abbildung 17 dargestellt.

Bei den untersuchten Rindern handelt es sich um 20 Monate alte Bullen, bei den Kälbern um 9 Monate alte Tiere.
Es ließ sich feststellen, daß die Hämoglobin- und Myoglobinbanden beim Rind gegenüber dem Kalb teilweise sehr deutlich zunahmen. Es handelt sich um die Banden bei pH 7,8; 7,5; 7,3; 7,2 und 7,0. Auffallend war auch der stärker angefärbte pH - Bereich 5,8 - 4,9 beim Rind, in dem auch die MDH - Zone enthalten ist.

Hausschwein/ Ferkel

In der Abbildung 17 sind die fokussierten Proben und Unterschiede zusammengestellt.

Bei den untersuchten Tieren handelt es sich um schlachtreife ca. 6 Monate alte Schweine und um ca. 8 - 9 Wochen alte Ferkel. Beim Ferkel waren einige Hämoglobin- und Myoglobinbanden (pH 7,7; 7,5; 7,2 und 7,1) stärker konzentriert als beim ausgewachsenen Schwein. Bei diesem war die Bande bei pH 8,4 stärker konzentriert.

Wildschwein

Zur Verfügung standen 4 Alterspaare (1 J./ 6 J.; 5 J./ 10 M.; 8 J./ 9 M.; 4 J./ 8 M.). Alle Tiere lebten in freier Wildbahn. Visuell ließen sich keine deutlichen Unterschiede erkennen, lediglich einige Myoglobin - Banden bei pH 6,9 und 6,8 waren bei den älteren Tieren stärker konzentriert, die Hämoglobin-Banden bei pH 7,7 und 7,5 waren bei den jüngeren Tieren stärker konzentriert. In der Abbildung 17 sind die Pherogramme des Paares WS N6/.N7 (1 J./ 6 J.) dargestellt.

Altersvergleich und Tierartendifferenzierung
Haus- und Wildschwein

In der Abbildung 18 sind die Pherogramme einiger Alterspaare von Haus- und Wildschwein gezeigt.
Schwierigkeiten können sich bei der Tierartendifferenzierung von Haus- und Wildschwein nicht ergeben, da die Myoglobin - Bande bei pH 7,2 im Pherogramm der Ferkel wesentlich stärker konzentriert ist als die der Pherogramme der Wildschweine. In diesem Fall ist eine Differenzierung möglich.

C. 3.2.4. Vergleich Wildbahn/ Gatterhaltung

Dieser Vergleich war nur bei Wildschwein und Damwild möglich. Untersucht wurden für jede Tierart zwei Paare, von denen für die photographische Darstellung jeweils ein Paar ausgewählt wurde (Abb. 19).
Es zeigten sich bei den vorhandenen Paaren keine Unterschiede zwischen Wildbahn- und Gatterhaltung.

C. 3.2.5 Vergleich der Probenaufbewahrung

Untersucht wurden exemplarisch die Mm. rhomboidei und die Mm. adductores beim Hausschwein, stellvertretend für die anderen Tierarten, da keine besonderen Unterschiede zu erwarten waren. Insgesamt wurden 6 Achterkombinationen fokussiert. Die Pherogramme eines repräsentativen Beispiels sind in Abbildung 20 photographisch dargestellt.

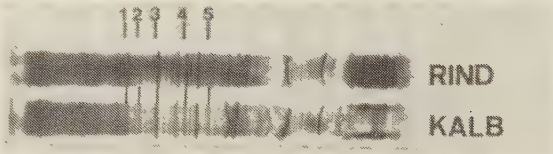
Es zeigten sich keine beachtenswerten und keine reproduzierbaren Unterschiede zwischen einer mehrmonatigen Lagerung (6 Monate, - 20° C) sowohl des Muskelfleisches als auch der Muskelfleischextrakte, lyophilisierten Muskelfleischextrakten und Fleischextrakten frisch entnommener Muskelproben.

C. 3.2.6. Tierartendifferenzierung
aller untersuchten Tierarten

Da lediglich beim Muskelvergleich eindeutige Unterschiede auftraten, die evtl. die Differenzierung beeinträchtigen können, wurden noch einmal alle untersuchten Muskelproben der einzelnen Tierarten fokussiert (Abb. 21). Die charakteristischen Banden jeder Tierart wurden mit zusätzlichen Balken versehen.

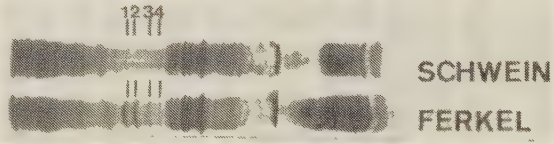
Abb. 17: ALTERSVERGLEICH **Mm. adductores**

RIND - KALB



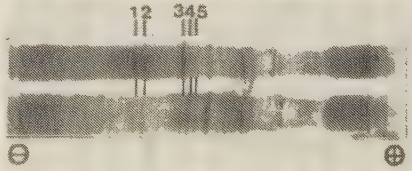
~pH	1 7,8	2 7,5	3 7,3	4 7,2	5 7,0	5,8	4,9
RIND	■	■	■	■	■	– – – –	
KALB	□	□	□	□	□		

SCHWEIN - FERKEL



~pH	1 7,7	2 7,5	3 7,2	4 7,1
SCHW	□	□	□	□
FERKEL	■	■	■	■

WILDSCHWEIN



~pH	1 7,7	2 7,5	3 7,0	4 6,9	5 6,8
1 J.	■	■	■	□	□
6 J.	□	□	□	■	■

ausgewähltes Beispielpaar WS N6/N7

■ Bande vorhanden
□ Bande schwächer
– – Bereich stärker konzentriert

Abb. 18: ALTERSVERGLEICH WILD- und HAUSSCHWEIN

ausgewählte Beispielpaare
WS N 7 / N 10
HS N 2 / Fe 2

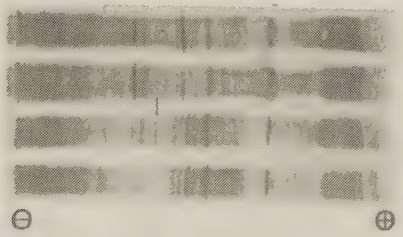
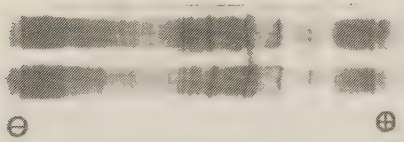


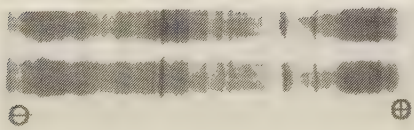
Abb. 19: WILDBAHN - GATTERHALTUNG

WILDSCHWEIN



ausgewähltes Beispielpaar
WS 58 / 38

DAMWILD



ausgewähltes Beispielpaar
Da 3 / 4

Abb. 20: VERGLEICH VERSCHIEDENER LAGERFORMEN

I. 6 Mon. gelagertes Muskelfleisch
II. 6 Mon. gelagerte Muskelfleischextrakte
III. frisches Muskelfleisch
IV. Lyophilisate

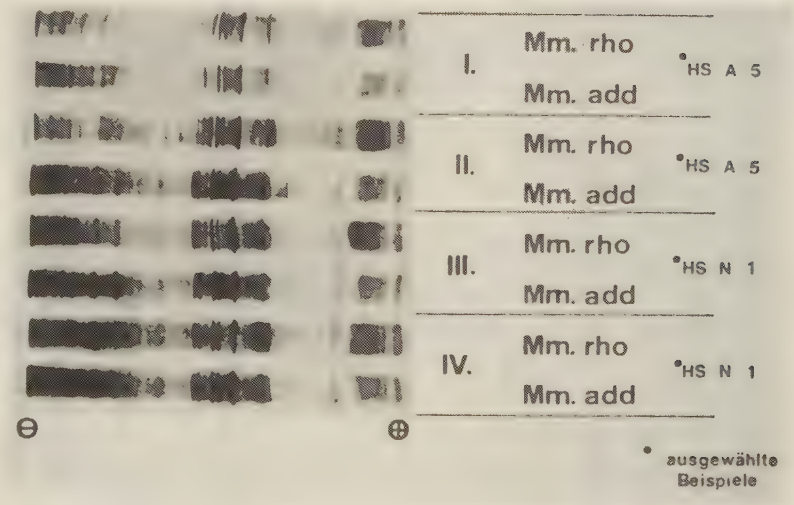
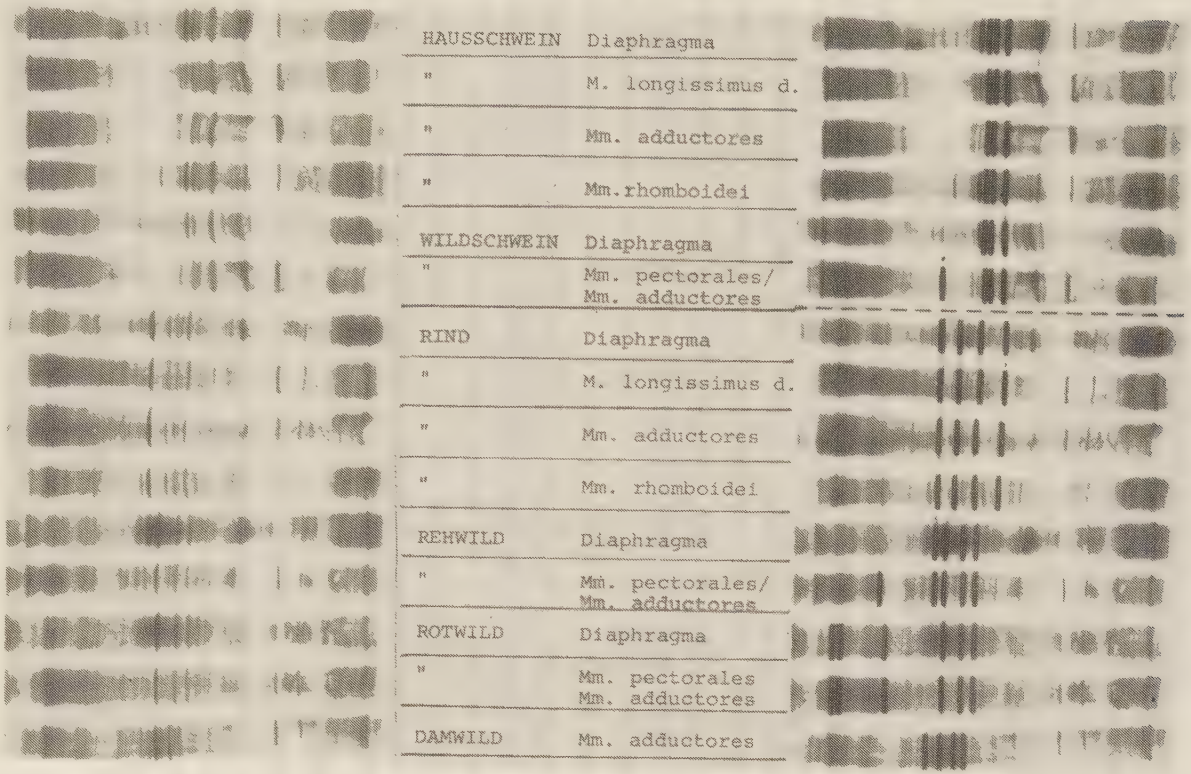


Abb. 21 : Tierartendifferenzierung anhand charakteristischer Erkennungsbanden (= |)



HAUSSCHWEIN	Diaphragma
"	M. longissimus d.
"	Mm. adductores
"	Mm.rhomboidei
WILDSCHWEIN	Diaphragma
"	Mm. pectorales/ Mm. adductores
RIND	Diaphragma
"	M. longissimus d.
"	Mm. adductores
"	Mm. rhomboidei
REHWILD	Diaphragma
"	Mm. pectorales/ Mm. adductores
ROTWILD	Diaphragma
"	Mm. pectorales Mm. adductores
DAMWILD	Mm. adductores

C. 3.3. Überprüfung der Eiweißkonzentrationen bei den einzelnen Versuchseinstellungen

Die Eiweißkonzentrationen der Muskelextrakte wurden mit dem Leerwertverfahren (Lösung 1 - Lösung 2) bestimmt. Wie in C.3.1. erklärt, stellen die erhaltenen Werte nicht die tatsächlichen Konzentrationen dar, sie lassen aber auf den vermutlichen Gehalt schließen.

C. 3.3.1. Ergebnisse der Eiweißbestimmung bei den Reifungsproben

In den Tabellen 23 - 27 sind die Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten der einzelnen Tierarten zusammengestellt.
Die Werte sind für jedes einzelne Tier während der Reifung (senkrecht) und nach Reifungstagen (waagerecht) aufgezeichnet. Für jedes Tier und für jeden Reifungstag sind der Mittelwert, der niedrigste und der höchste Wert sowie die Standardabweichung aufgeführt.

Rind

Aus der Tabelle 23 geht hervor, daß die Eiweißkonzentrationen an den einzelnen Reifungstagen zwischen den Tieren ebensowenig variieren wie die Werte der Tiere während der Reifung.
Während der Reifung waren weder eine Zunahme noch eine Abnahme der mittleren Werte festzustellen. Sie schwankten zwischen 13,4 und 19,5 mg/ ml.

Hausschwein

Während des Reifungsverlaufes schwankten die Werte der einzelnen Tiere kaum, dies geht aus den niedrigen Standardabweichungen hervor. Das gleiche gilt für die Werte der Tiere an den einzelnen Reifungstagen. Des weiteren ließ sich feststellen, daß die mittleren Eiweißwerte während der Reifung zunächst geringfügig absanken und dann zum Ursprungswert zurückkehrten, am 7. Tag nahm der Eiweißgehalt wieder ab (Tab. 24).

Wildschwein

Die Eiweißkonzentrationen der Wildschweinproben an den einzelnen Reifungstagen zeigten keine deutlichen Unterschiede; auffällig war lediglich eine geringfügige Zunahme der mittleren Eiweißwerte der Tiere zum 2./ 3. Tag, danach nahm die Eiweißkonzentration wieder ab. Die Werte der einzelnen Tiere wichen auch nur gering voneinander ab (Tab. 25).

Damwild

Die Konzentrationsschwankungen während der Reifung waren äußerst gering. Die mittleren Werte aller Tiere zeigten bei der Reifung weder eine deutliche Zu- noch eine Abnahme. Bei Betrachtung der einzelnen Reifungstage fielen ebenfalls die geringen Schwankungen auf (Tab. 26).

Rehwild

Die Konzentrationen eines Tieres während der Reifung schwankten kaum (Standardabweichung 1,0 - 5,2), dagegen unterlagen die Werte der Tiere an den einzelnen Reifungstagen größeren Schwankungen (Standardabweichung 4,0 - 10,1). Auffällig dagegen war die extrem niedrige Schwankungsbreite (31,5 - 33,8 mg/ ml) zwischen den mittleren Werten der einzelnen Reifungstage (Tab. 27).

Rotwild

Zur Eiweißbestimmung konnte nur auf zwei Tiere zurückgegriffen werden. Bei einem Tier fiel während der Reifung die relativ große Breite von 20 mg/ ml zwischen 24,7 und 44,7 mg/ ml auf. Die mittleren Werte der einzelnen Tiere lagen jedoch relativ dicht beieinander (Tab. 27).

C. 3.3.2. Ergebnisse der Eiweißbestimmung bei den verschiedenen Muskelproben

Die Ergebnisse der Eiweißbestimmung mittels des Leerwertkorrekturverfahrens sind für die verschiedenen Tierarten in den Tabellen 28 bis 30 zusammengestellt; dabei wurde für alle Tierarten bei jeder Muskelprobe der Mittelwert und die Standardabweichung gebildet sowie zusätzlich noch einmal Maxima und Minima angegeben (horizontale Reihe).

Rind

Die Eiweißkonzentrationen vom Diaphragma, Pars muscularis und den Mm. rhomboidei, also Beispiele für die rote Muskulatur, lagen nahe beieinander: 14,7 bzw. 15,3 mg/ ml. Um fast das Doppelte höher lagen die Eiweißwerte der Mm. adductores und des M. longissimus dorsi: 26,7 und 28,0 mg/ ml (Tab. 28).

Hausschwein

Die Mm. rhomboidei lagen mit ihren Eiweißkonzentrationen von 21,7 mg/ ml von den vier untersuchten Muskeln an der unteren Skala. Um knapp 8 mg/ ml höher lag die Eiweißkonzentration der Pars muscularis vom Diaphragma. Fast den gleichen Wert erreichte die Konzentration der Mm. adductores. Den höchsten Wert, der wiederum um 8 mg/ ml höher war, gehörte zum M. longissimus dorsi (Tab. 28).

Wildschwein

Zur Bestimmung waren sowohl Proben von Tierkörpern der Berliner Forstämter als auch Proben von Teilstücken einer Berliner Wildimportfirma vorhanden.
Die Eiweißkonzentrationen der Pars musc. des Diaphragmas und der Mm. pectorales bei den Tierkörpern lagen nur um 2,4 mg/ ml auseinander (31,0 und 33,4 mg/ ml). Der Wert der Mm. adductores war um 7 mg/ ml höher. Bei allen drei Muskelarten waren die Standardabweichungen mit 9,9 - 12,8 extrem hoch (Tab. 29). Die Werte der Importteile lagen um knapp 4 mg/ ml niedriger als die Werte der entsprechenden Tierkörperteile, 26,1 mg/ ml für die Pars musc. des Diaphragma und 28,5 für die Mm. pectorales. Die Standardabweichungen waren mit 4,7 und 2,8 relativ niedrig (Tab. 29).

Rotwild

Beim Rotwild gelangten nur wiederaufgetaute Wildimportteile zur Untersuchung. Der mittlere Eiweißwert der Pars musc. vom Diaphragma (36,2 mg/ ml) lag um knapp 4 mg/ ml höher als der der Mm. pectorales. Die Standardabweichungen waren mit 10,6 und 12,8 sehr hoch (Tab. 29).

Rehwild

Bei den 4 Tierkörperproben der Berliner Forstämter lag der Wert der Mm. adductores um fast 13 mg/ ml höher (42,1) als der Wert der Pars musc. vom Diaphragma. Den niedrigsten Wert erreichten die Mm. pectorales (Tab. 30).
Dagegen zeigten die Werte bei den Teilen der Wildimportfirma wesentlich geringere Unterschiede: 30,5 mg/ ml für die Pars muscularis des Diaphragma und 28,9 mg/ ml für die Mm. pectorales (Tab. 30).

C. 3.3.3. Ergebnisse der Eiweißbestimmung bei verschieden alten Tieren

Untersucht wurden die Muskelextrakte der Mm. adductores von Rind und Kalb sowie von Hausschwein und Ferkel. Bei beiden Tierarten unterschieden sich die Konzentrationen bei den verschieden alten Tieren nur unwesentlich voneinander (Tab. 31).

C. 3.4. Charakterisierung der Fleischqualitätsparameter des Probenmaterials

Die Ergebnisse aller pH -, Q - und Temperaturmessungen der untersuchten Tiere bzw. Tierkörperteile wurden in den Tabellen 10 bis 21 des Anhangs I aufgelistet.

Eine zusammenfassende Darstellung der Mittelwerte der pH -, Q - und Temperaturmessungen bei den Wildtieren in Abhängigkeit vom Meßzeitpunkt nach dem Erlegen geben die Tabellen 8 bis 9 wieder.

Schwarzwild (Wildschwein)

Die pH - Werte schwankten innerhalb der einzelnen Zeiträume; die mittleren pH - Werte lagen bei 6,05 (2 h p.m.), 5,60 (24 h p.m.), 5,60 (48 h p.m.), 5,53 (72 h p.m.). Ein Zeichen für die unterschiedlichen Aufbewahrungsarten in den Forstämtern waren die teils extrem voneinander abweichenden Kerntemperaturen der Muskulatur. Die Q - Werte der Tiere lagen bei 0,62 (2 h), 0,58 (24 h), 0,55 (48 h), 0,57 (72 h); die Standardabweichungen waren mit 0,11 (2 h) und 0,09 (24 h + 48 h) relativ hoch.

Der mittlere pH - Wert bei der Messung nach dem Auftauen der Brustteile (Wildimportfirma) betrug 5,81.

Damwild

Der pH - Wert schien von 6,13 (2 h p.m.) (nur 2 Proben) auf 5,77 (24 h p.m.) zu fallen. Aufgrund der relativ geringen Probenzahl bei 48 h, 72 h und 96 h entfiel eine tendenzielle Beurteilung des pH - Wertes.
Auch beim Damwild streuten die Temperaturwerte aufgrund der unterschiedlichen Aufbewahrungsarten sehr stark.
Die Q - Werte 2 h und 24 h lagen dicht beieinander, 0,67 und 0,65. Da auch die übrigen Werte sehr stark untereinander schwankten, läßt sich aus ihnen keine Tendenz ableiten.

Weiterführende Angaben (Tab. 22) finden sich bei REUTER (1985).

Rehwild

Bei 2 Tieren lagen die pH - Werte 2 h p.m. bei 6,10 und 6,23. In dem Kollektiv 24 h p.m. mit 14 Tieren betrug der mittlere pH - Wert 5,61. Die 48 h- und 72 h- Werte lagen bei 5,60/ 5,67 sowie 5,23/ 5,63.
Die Temperaturen waren wie bei den anderen Wildarten aus den gleichen Gründen recht verschieden.
Die Q - Werte der beiden Tiere 2 h p.m. wichen stark voneinander ab. Auffällig war auch die relativ große Schwankungsbreite bei den Tieren bis zu 24 h p.m. Ihr mittlerer Q - Wert lag bei 0,62.

Rotwild

Die pH - Wertmessungen der 3 Tiere wurden zu verschiedenen Zeiten vorgenommen, es handelt sich daher um Einzelwerte.

Tabl. 8 : Ergebnisse der begleitenden Qualitätsuntersuchungen

Wildtiere

Zeitpunkt der Messung	pH - Werte				Temperatur °C		Q - Werte			
h	n	$\bar{x}$	Min. - Max.	s	n	Einzelwerte	n	$\bar{x}$	Min. - Max.	s
SCHWARZWILD										
≤ 2	9	6,05	5,73 - 6,63	0,40	1	31,9	9	0,62	0,44 - 0,78	0,11
≤ 24	37	5,60	5,30 - 6,89	0,16	7	9,7; 8,8 21,9; 10,0 13,0; 15,3 3,4;	36	0,58	0,40 - 0,79	0,09
≤ 48	16	5,60	5,43 - 5,96	0,12	1	5,0	15	0,55	0,40 - 0,79	0,09
≤ 72	5	5,53	5,45 - 5,62	0,06	1	1,2	5	0,57	0,53 - 0,63	0,04
≤ 96	1	5,71	5,71	-	-	--	2	-	0,55; 0,66	-
DAMWILD										
≤ 2	26	6,13	5,43 - 6,58	0,32	4	40,1; 40,1 36,5; 32,3	25	0,67	0,44 - 0,81	0,09
≤ 24	10	5,77	5,38 - 6,34	0,32	2	12,4; 12,3	9	0,65	0,57 - 0,79	0,08
≤ 48	2	-	5,62; 5,73	-	1	2,7	2	-	0,37; 0,67	-
≤ 72	2	-	5,57; 5,67	-	-	-	2	-	0,61; 0,61	-
≤ 96	1	-	5,58	-	-	-	1	-	0,60	-

Tabl. 9: Ergebnisse der begleitenden Qualitätsuntersuchungen

Wildtiere

Zeitpunkt der Messung h	pH - Werte n	x̄	Min. - Max.	s	Temperatur °C n	Einzelwerte	Q - Werte n	x̄	Min. - Max.	s
REHWILD										
≤ 2	2	-	6,10; 6,23	-	-	- -	2	-	0,56 0,78	-
≤ 24	14	5,61	5,27 - 5,90	0,19	5	16,7; 29,4 6,0; 1,3 3,2	11	0,62	0,43 - 0,83	0,12
≤ 48	2	-	5,60; 5,67	-	1	2,8	4	-	0,58; 0,76 0,51; 0,78	-
≤ 72	2	-	5,23; 5,63	-	1	0,7	2	-	0,49; 0,79	-
ROTWILD										
2	1	-	5,55	-						
17	1	-	5,60	-						
≤ 48	1	-	5,70	-						

D. DISKUSSION

D. 1. Erkenntnisse zur Methodik des PAGIF - Verfahrens

Die bereits bekannte isoelektrische Fokussierung auf 1 mm dicken Polyacrylamid - Fertiggelplatten der Fa. LKB (RUBACH et al., 1978, STOLLE et al., 1983) wurde auch bei diesen Untersuchungen angewandt, da diese Methode die Voraussetzung einer auch in der Routine einfachen und effektiven Durchführung erfüllte.
Nach einer intensiven Einarbeitung sind sowohl die Probenaufarbeitung wie auch die Durchführung der Fokussierung gut zu beherrschen.
Mit der Auswahl des größtmöglichen pH - Bereiches sollten möglichst viele Banden bzw. Fraktionen erfaßt werden. Ein kleinerer pH - Bereich hätte nur einen Ausschnitt des Gesamtspektrums gespreizt, wobei jedoch keine Aussage über das gesamte Pherogramm möglich gewesen wäre.
Von den verschiedenen Aufarbeitungsverfahren wurde die "Protein - Extraktion" mit Wasser der Extraktion für Lipide mit Tetrachlorkohlenstoff und Glycin vorgezogen (Methodensammlung zum § 35 LMBG; FÜHRLING und GERSONDE, 1980; KAISER et al., 1980). Um möglichst wenig Ionen im Extrakt zu erhalten, wurden die Muskelproben im Verhältnis 1 : 1 mit Aqua. dest. versetzt. Eine Verdopplung der Wassermenge führte lediglich zu einem Verdünnungseffekt, jedoch zu keiner Verbesserung der Aussagekraft der Pherogramme.
Eine zusätzliche Entfettung mit Aceton konnte durch Verwendung von fettbefreiten Muskelproben umgangen werden und führte zu keiner Beeinträchtigung der Aussage. Bei der Analyse fetthaltiger Proben können die Überstände gegebenenfalls abpipettiert werden.

Die Probenaufgabe mit Filterpapieren hat sich im Gegensatz zu den Aufgabeschablonen als günstiger erwiesen. An den Lochrändern der Schablone kommt es immer wieder zu massiven Ansammlungen sowohl löslicher als auch unlöslicher Proteine, die an dieser Stelle den pH - Gradienten erheblich beeinflussen kön-

nen. Die Filterpapiere haben allerdings den Nachteil, daß die Aufgabemengen zwischen 15 und 20 µl schwanken können. Diese Schwankungen können jedoch durch vorsichtiges Abstreifen der überschüssigen Flüssigkeitsmenge verhindert werden.

Als günstig hat sich die Filterpapier- bzw. Probenaufgabe auf der Position 5,5 der Schablone erwiesen. Bei allen Tierarten waren, bis auf die gut erkennbare sogenannte Wiederkäuerbande, kaum Banden an dieser Stelle vorhanden. Die Aufgabeposition war auch ausreichend weit von der Anode entfernt.

Die Filterpapiere sollten nach gut 1/3 der Fokussierzeit wieder abgenommen werden, da innerhalb dieses Zeitraumes das Gemisch aus dem Papier abgegeben wird. Ein längeres Verbleiben auf der Geloberfläche kann durch Wiederaufnahme der Proteine in das Filterpapier den pH - Gradienten an dieser Stelle beeinflussen und so zur sog. Schwanzbildung (Tailing) führen.

Die anzusetzenden Lösungen (C. 1.5.) sollten nach Gebrauch nicht wieder verwendet werden. Schon geringste Farbstoffmengen können sich bei der Fixierung, Entfärbung sowie Konservierung als störend erweisen, indem sie den "Hintergrund" der "plates" verstärken, was zu einer schlechteren Erkennbarkeit der Unterschiede führt. Die Zwischenräume und Seitenstreifen sollten glasklar sein. Die Entfärbung mit in Entfärbelösung getauchtem Zellstoff hat sich gegenüber dem 3 x 15 minütigen Verbleiben der "plates" in der Entfärbelösung als effizienter und zeitsparender erwiesen.

Bei dem angewandten Verfahren handelt es sich um ein qualitatives Bestimmungsverfahren, das lediglich eine Einstufung der Ergebnisse in Ja-/ Nein - Entscheidungen (Bande vorhanden oder nicht vorhanden) bzw. in verschiedene Grade zwischen Ja-/ Nein zuläßt. Auf keinenFall werden jedoch quantifizierbare Ergebnisse ermittelt. Daher hängt die Ergebnisfindung sehr stark von der Subjektivität des Betrachters ab. Die auswertende Per-

son sollte sich mit der Zeit "einlesen" und darf nicht wechseln.

Während bei der Betrachtung der Pherogramme verschiedener Tierarten häufig qualitative Unterschiede, also Ja-/ Nein - Entscheidungen möglich sind, liegen bei den Vergleichen innerhalb einer Tierart oft Entscheidungen gradueller Art vor.

In dieser Arbeit wurden nur solche Unterschiede berücksichtigt, die "deutlich quantitativer" bzw. "qualitativer" Art waren. Aufgeführt sind die Unterschiede, die bei jedem einzelnen Tier sichtbar waren bzw. immer wieder und selbst bei einer Eiweißeinstellung auf 1 % reproduzierbar waren.

Das sogenannte Abscannen des gesamten Pherogramms zwischen pH 3,5 und 9,5 mit dem Densitometer ergibt eine derart große Zahl von Banden, daß auch für einen geübten Betrachter die Interpretation erschwert werden kann.

Durch das Spreizen der Peaks über eine Verlangsamung der Schreibergeschwindigkeit erhält man häufig Auflösungen, die sich mit dem subjektiv bzw. visuell gewonnenen Ergebnis nicht in Einklang bringen lassen.

Der gesamte Untersuchungsvorgang dauert vom Auftauen der Proben bzw. gleichzeitigen Herunterkühlen der Kühlplatte bis zur ersten visuell möglichen Auswertung (Entnahme aus der Konservierungslösung) ca. 5 1/2 Stunden. Innerhalb eines Arbeitstages können bei zeitlicher Versetzung von 2 1/2 Stunden der zweiten Fokussierung insgesamt 2 x 24 = 48 Proben, bei der Verwendung der LKB - Aufgabeschablone 2 x 48 = 96 Proben, mit nur einer Fokussiereinheit getrennt und beurteilt werden.

Eine Einrichtung zum Selbergießen der Platten kann sich nur bei routinemäßig dauernder Fokussierung amortisieren, für Einzeluntersuchungen dürfte sie ebenso kostenaufwendig sein wie die von LKB fertig hergestellten Platten.

Es hat sich als günstig erwiesen, die gefärbten PAG - Platten möglichst sofort zu fotografieren, denn die Haltbarkeit der Färbung ist begrenzt (1/2 - 1 Jahr).

Eine Übertragung der auf den LKB - Fertiggelplatten erzielten Ergebnisse auf Platten anderer Firmen ist nicht möglich, da diese andere Carrier bzw. Carrierzusammensetzungen und -konzentrationen benutzen, die mit denen der Ampholine von LKB nicht übereinstimmen. Des weiteren werden bei der Verwendung anderer Platten und auch anderer pH - Bereiche andere Bedingungen vorgeschrieben, z.B. Stromwerte oder Kühltemperaturen, so daß die erzielten Ergebnisse nicht zu vergleichen sind. Dies gilt insbesondere für die isoelektrischen Punkte der Fraktionen.

Verbunden mit der Wahl der Plattenstärke 1,0; 0,5; 0,1 mm war die Frage nach der Notwendigkeit einer Eiweißbestimmung und -einstellung. Bei der Verwendung von LKB - PAG - Gelplatten hätten die Platten der Stärke 0,1 mm selber gegossen werden müssen.

Ausgehend von der Überlegung, daß alle Platten ungefähr die gleiche Ampholine - Konzentration haben, hätte eine 1 mm dikke Platte die 10 - fache Menge Ampholyte als eine 0,1 mm dikke Platte, d.h. sie hätte eine 10 - fach größere Kapazität, Proteine aufzunehmen und zu trennen. Dies ist besonders wichtig bei hochkonzentrierten Muskelextrakten. Selbst bei hohen Konzentrationen darf es nicht zu Überladungen bei den dicken Platten kommen.

Bei der Untersuchung einer Proteintestmischung in den relevanten Konzentrationsbereichen auf 1,0 mm (Ampholinekonz. 2,4%) und 0,5 mm (Ampholinekonz. 3 %) dicken Platten wurden diese Überlegungen bestätigt. Dabei hat sich ein Proteinkonzentrationsbereich von 15 - 40 mg/ ml auf den 1,0 mm dicken Gelplatten als günstig erwiesen.
Bei der Proteinbestimmung der Muskelextrakte stellte sich heraus, daß sich der Großteil der Muskelextrakte genau in diesem Konzentrationsbereich (15 - 35 mg/ ml) bewegte.

Die Frage, ob Banden mit sinkender Konzentration einer Proteintestmischung auf den dickeren Platten verschwinden, konnte durch Untersuchungen verneint werden. Auch bei den späteren Untersuchungen, insbesondere beim Vergleich verschiedener Muskelproben verschwanden, durch die vorgenommenen Verdünnungen und die Einstellung auf 1 % (10 mg/ ml) keine Banden. Es wurden uneingestellte und eingestellte Extrakte nebeneinander fokussiert. Das Pherogramm wurde zwar insgesamt in seiner Farbintensität schwächer, doch das Intensitätsverhältnis der Banden zueinander sowie die Unterschiede zwischen den Pherogrammen blieben davon völlig unbeeinflußt. Eine Eiweißbestimmung und -einstellung war daher bei 1,0 mm dicken Platten nicht erforderlich.

D. 2. Erkenntnisse zur Methodik der Proteinbestimmung

Für die Eiweißbestimmung galt es, eine der geringen Menge an Muskelextrakt angemessene sowie in der Routine einfach auszuführende Bestimmungsmethode zu finden.

Das Kjeldahl - Verfahren, bei dem stellvertretend für die Proteinmenge die Stickstoff - Menge bestimmt und diese mit dem Faktor 6,25 multipliziert wird, schied aus Gründen der geringen vorliegenden Extraktmengen und aus Zeitgründen aus. In diesem Verfahren werden außerdem auch stickstoffhaltige Nichtproteinverbindungen erfaßt, die für die im Rahmen dieser Untersuchungen durchgeführte Fokussierung uninteressant sind (PETRIDES, 1979).

In der Methodensammlung zum § 35 LMBG wird die Biuret - Methode bei der Fokussierung empfohlen. Testbestecke für diese Eiweißbestimmung in Serum-, Plasma-, Harn- und Liquorproben werden von verschiedenen Firmen (Merck, Boehringer Mannheim, Behring) für die Humanmedizin angeboten.

Laut internationaler Übereinkunft wird bei der Biuret - Methode gegen Albumin geeicht bzw. gemessen (NEUHOFF, 1984). Die Muskelextrakte enthalten gelöste Monomere, Dimere und Oligomere der verschiedenen Proteine, worunter sich auch kolloidal gelöste und sichtbare Proteinaggregate verschiedener Größen befinden. Die ungelösten, nicht extrahierbaren Proteine der.

Mikropartikel bei nicht gefilterten Extrakten werden bei der alkalischen Biuret - Reaktion mehr oder weniger vollständig gelöst und stören dementsprechend.

Die Testbestecke sind zwar für die Berücksichtigung leicht hämolytischer, ikterischer und trüber Seren mit einer Leerwertlösung versehen. In den Muskelextrakten sind jedoch Pigmentproteine (Myoglobin, Hämoglobin) enthalten, die dem Extrakt eine Eigenfarbe geben und eine photometrische Messung stören, indem sie höhere Eiweißwerte vortäuschen (SIGMA TECHN. BULLETIN). Es wurden daher die Genauigkeiten der einfachen Biuret - Methode und einer Leerwertkorrektur überprüft sowie eine Hämoglobinbestimmung und -korrektur in Anbetracht des starken Vorhandenseins von Hämoglobin und des im Aufbau verwandten Myoglobins. Keine der Methoden erwies sich dabei als genau.

Vielversprechend sind dagegen Proteinbestimmungen mittels des Farbreagenz Coomassie Blue, dessen Effizienz und Genauigkeit in bezug auf den Proteingehalt in Muskelextrakten zur Zeit geprüft werden (FÜHRLING, Pers. Mitteilung 1985).

Dabei handelt es sich um die sogenannte Tüpfelmethode nach NEUHOFF (1984), die u.a. in der Neurochemie eingesetzt wird. Hier werden geringste Mengen an Protein auf eine Celluloseacetatfolie aufgetragen (getüpfelt), nach dem Antrocknen mit Coomassie Blue gefärbt und mit Dimethylsulfoxid aufgelöst, die Farbzunahme kann dann photometrisch gemessen werden.

Eine weitere Methode ist die Proteinbestimmung mittels des Protein Assay Reagenz der Fa. Biorad, München. Das Verfahren ist sehr einfach durchzuführen. Es erfordert nur dieses eine Reagenz, geringe Mengen Protein (µg - Bereich) und eine Wartezeit von lediglich 5 Minuten. Gemessen wird photometrisch in einem saurem Medium (Biuret: alkalisches Medium). Ferner entfallen die Störungen, die durch die Nicht - Protein - Verbindungen hervorgerufen werden (Fa. Biorad, Arbeitsanleitung).

Die letztere Methode sollte angesichts ihrer raschen Durchführbarkeit sowie der relativen Ungenauigkeit bisheriger Verfahren (Biuret - Methode) Eingang in die Routine finden.

D. 3. Erkenntnisse zur Fokussierung bei der Tierartendifferenzierung

D. 3.1. Vergleich von Reifungsproben

Untersuchungen und Beobachtungen von HAMM (1972) und LAWRIE (1970) ließen bei der Fleischreifung auf eine Änderung der Protein- und Enzymkomponenten durch biochemische Prozesse in der Muskulatur schließen.

Dagegen betrachteten FÜHRLING und GERSONDE (1980) die Reifungseinflüsse als unbedeutend bei den Untersuchungen mit PAGIF. Dieses konnte auch KÖNIG (1982) bei der Untersuchung von Haus- und Wildschweinmuskulatur mit dem PAGE- und dem PAGIF - Verfahren bestätigen.

Die geringen quantitativen Unterschiede in den Pherogrammen bei den vorliegenden Untersuchungen zur Fleischreifung dekken sich mit den Ergebnissen von FÜHRLING und GERSONDE (1980) bzw. KÖNIG (1982).

Die post mortem ablaufenden biochemischen Prozesse in der Muskulatur scheinen keine sichtbaren Veränderungen, weder im Proteingehalt noch in der Zusammensetzung der Komponenten, hervorzurufen.

D. 3.2. Vergleich verschiedener Muskelproben

Im Hinblick auf die Tierartendifferenzierung ist die Frage nach dem Einfluß durch verschiedene Muskelproben, d.h. verschiedener Entnahmestellen am Tierkörper, von entscheidender Bedeutung.

Beim Vergleich verschiedener Muskeln aller hier untersuchten Tierarten konnte zwischen roter und weißer Muskulatur unterschieden werden. Die Ergebnisse von SCOPES (1970) und CHAMPION et al. (1970), die bei der Stärkegelelektrophorese deutliche Unterschiede und für jede Muskelart charakteristische Banden finden konnten, wurden somit bestätigt. Die Untersuchungen von BASS et al. (1969) und BIRKHARDT (1972) hinsichtlich der Aktivitäten der Enzyme Laktatdehydrogenase und Malatdehydrogenase in den beiden Muskulaturarten waren mehr biochemisch orientiert. Es wurde versucht, dies nachzuvollziehen, indem gelöste Lyophilisate dieser Enzyme aufgetragen

und mit den Pherogrammen der Muskelproben verglichen wurden. Statt der erwarteten einzelnen Banden bildeteten sich "Zonen" mit Banden. Die Enzyme waren mit anderen Proteinen stabilisiert worden; außerdem gibt es mehrere Isoenzyme der Laktatdehydrogenase. Die Zonen ließen sich daher nur bedingt mit den entsprechenden Pherogrammabschnitten der Muskeln vergleichen. Auffällig waren dennoch die jeweils stärkeren Konzentrationen der entsprechenden Pherogrammbereiche bei den einzelnen Muskelproben.

Auch die unterschiedlichen Hämoglobin- und Myoglobingehalte beider Muskelarten wurden mit fertig- bzw. selbst hergestellten Referenzsubstanzen verglichen. Bereits WILSON et al. (1959) gelang die Unterscheidung zwischen roter und weißer Muskulatur, allerdings mittels einer direkten Myoglobinbestimmung. Mithilfe der Elektrofokussierung zeigte sich bei den hier durchgeführten Untersuchungen, daß sich auch die unterschiedlich konzentrierten Hämoglobin- und Myoglobinbanden gut zur Unterscheidung der beiden Muskelarten heranziehen lassen.

Bei der Trennung in rote und weiße Muskulatur konnten quantitative und qualitative Unterschiede festgestellt werden, wobei oft fließende Übergänge zwischen "deutlich quantitativen" und "qualitativen" Unterschieden vorhanden waren. Die hier untersuchten Unterschiede waren deutlich, traten bei allen untersuchten Tieren auf, auch bei denen mit abweichender substantieller Beschaffenheit, und waren reproduzierbar.

Die Untersuchungsergebnisse stimmen mit denen von KAISER et al. (1980) sowie von HEINERT und KLINGER (1978) nicht überein, die bei der PAGE bzw. PAGIF keine Unterschiede zwischen den Pherogrammen verschiedener Körperregionen bei Rind und Schwein erkannten. Die Aussage von KRONMANN et al. (1960) konnte bestätigt werden. Er fand bei den Pherogrammen wasserlöslicher Eiweiße aus der Rindermuskulatur beachtliche Variationen.

Bei den Untersuchungen von GISSEL (1978) wich das Pherogramm des Koteletts von denen des Schinkens und des Nackens ab, wobei er jedoch eine Übereinstimmung der Schweinefleischpartien in den Hauptbanden feststellte.

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen stimmten die Pherogramme der Mm. adductores und des M. longissimus dorsi überein. Die Mm. rhomboidei zeigten die Pherogrammeigenschaften der Pars muscularis des Diaphragma, die mit denen der beiden obengenannten Muskeln nicht übereinstimmten. Bei den Wildtieren konnten aus technischen Gründen (keine destruktiven Eingriffe bei den nicht gespaltenen Tierkörpern) nur zwei bzw. drei Muskeln untersucht werden. Auch hier unterschied sich das Pherogramm des Diaphragma von denen der Mm. adductores und pectorales. KÖNIG (1982) vermutete eine Übereinstimmung aufgrund besserer Aus- und Entblutung der Hausschweine zwischen Schinken und Kotelett beim Aufhängen an den Hinterbeinen. Beim Wildschwein, das ebenfalls zum Lagern oft an den Hinterbeinen aufgehangen wird, waren diese Unterschiede nicht mehr so ausgeprägt.
Bei den Haustieren zeigte sich eine Vielzahl von Unterschieden, insbesondere im Bereich der Hämoglobin- und Myoglobinbanden. Die letzteren Unterschiede waren bei den Wildtieren nicht so deutlich.
Es scheint vielmehr so zu sein, daß für den Vergleich verschiedener Muskeln neben der Trennung in rote und weiße Muskulatur auch eine Unterscheidung hinsichtlich der funktionellen Beanspruchung bzw. der Tierart an sich getroffen werden muß.

Die vermehrte Bildung von Myoglobin zeigte sich besonders in der sogenannten weißen Muskulatur der Wildschweine. Das Wildschwein hat aufgrund der natürlichen Haltungsbedingungen eine größere Bewegungsaktivität als das Hausschwein. LEHMANN (1904) und HAMMOND (1932) berichteten bereits über eine erhöhte Bildung von Myoglobin bei systematischem Muskeltraining, welches hingegen in inaktiven Muskeln nur in geringem Maße aufgebaut wird. Die Aussagen von HELANDER (1957), der eine Verminderung der myofibrillären und sarkoplasmatischen Proteine bei Funktionsherabsetzung feststellte, und von ASHMORE (1974), der eine numerische und plastische Zunahme der weißen Fasern bei der hier durchgeführten Untersuchungsmethode nicht nachvollzogen werden.

Die hier dargestellten Haustiere sind typische Vertreter einer modernen Intensivhaltung mit wenig Bewegungsmöglichkeiten. Bei ihnen ist eine gute Trennung in rote und weiße Muskulatur bzw. eine Identifizierung dieser möglich. Die Wildtiere andererseits gaben sehr gute Beispiele dafür, wie sich Muskeln veränderten Stoffwechselanforderungen anpassen können. Bei ihnen werden die Unterschiede zwischen roter und weißer Muskulatur bezüglich der Hämoglobin- und Myoglobinbanden geringer und damit wird auch das Erkennen der einzelnen Muskelart schwerer. Oft müssen deshalb andere Banden herangezogen werden.

D. 3.3. Vergleich verschieden alter Tiere

Bei Untersuchungen zur Tierartendifferenzierung wurde die Frage nach Alterseinflüssen oft nur am Rande behandelt. Bereits SPELL (1974), RUBACH et al. (1978), KAISER et al. (1980) konnten mittels PAGIF bzw. PAGE bei Haustieren: Kalb/ Rind und Lamm/ Schaf nach Altersstufen differenzieren.

Bei der Frage nach Alterseinflüssen treten die von etlichen Autoren beschriebenen Veränderungen im Enzymgefüge (LAWRIE, 1963; VAN DEN HENDE, 1967; PERRY, 1970) gegenüber den Veränderungen durch Haltung bzw. Bewegungsmöglichkeiten in den Hintergrund. Lediglich die von LAWRIE et al.(1963) beschriebene Veränderung: rasche Zunahme an Myoglobin zwischen 1. und 3. Lebensjahr beim Rind konnte bestätigt werden. Die Angaben von VAN DEN HENDE und PERRY konnten mit den vorliegenden Untersuchungen nicht nachvollzogen werden. Beim Hausschwein war die Zeitspanne zwischen 8 Wochen (Ferkel) und 6 Monaten (Hausschwein) zu kurz, um die Befunde der oben erwähnten Autoren bestätigen zu können. Auffällig aber waren beim Hausschwein die Abnahmen der Hämoglobin- und einer Myoglobinbande.

Die Haltung der hier untersuchten Haustiere zielt auf eine schnelle Wachstumszunahme in relativ kurzer Zeit durch hohe Nahrungsaufnahme und wenig Bewegung ab. Daraus ergeben sich notwendigerweise andere Bedingungen bei der Ausbildung des Enzymgefüges bzw. des Muskelaufbaus.

Die Wildtiere verschiedenen Alters, von denen hier nur die Wildschweine untersucht werden konnten, zeigten bei den Hämoglobin- und Myoglobinbanden kaum bzw. keine Unterschiede. Die Erklärung für die geringeren Unterschiede läßt sich aus der Anpasssung an die größere Bewegungsaktivität, wie sie bereits von den Autoren LEHMANN (1904), HAMMOND (1932), ASHMORE (1974) und HELANDER (1957) beschrieben worden ist, ableiten.

D. 3.4. Vergleich Wildbahn-/ Gatterhaltung

Nach den bisher vorliegenden Erkenntnissen wurden Einflüsse auf die Proteinstruktur bei Wildtiermuskeln durch unterschiedliche Haltung nicht durchgeführt. In dieser Arbeit wurden keine Unterschiede der verschiedenen Haltungsformen sowohl bei Damwild als auch beim Wildschwein gefunden. Allerdings wurden die Berliner Gattertiere in großen abgegrenzten Waldgebieten gehalten, die denen der Wildbahngebiete entsprachen. Außerdem fand eine Zufütterung auch in den Wildbahngebieten statt. Die Frage nach Haltungseinflüssen muß daher noch genauer untersucht werden.

D. 3.5. Vergleich der Lagerung des Probenmaterials

Die eigenen Beobachtungen, daß die Proteinmuster tiefgefrorener Fleischextrakte sich nicht ändern, decken sich mit den Ergebnissen von HEINERT und KLINGER (1978), die bei -18° C tiefgefrorenen Fleischextrakten noch nach 12 Monaten die gleichen Proteinmuster bei der PAGE vorfanden. HOFMANN (1985) fand bei der IEF ebenfalls keine Unterschiede.
KAISER et al. (1980) sahen gefriergetrocknete Muskelextrakte für solche Untersuchungen als ungeeignet an. Dieses konnte nicht bestätigt werden. Diese Ergebnisse decken sich mit den Untersuchungsergebnissen einer Arbeitsgruppe im Bundesgesundheitsamt (PROTZ, 1984) und mit denen von HOFMANN (1985). Die Extrakte tiefgefrorener Muskelproben wiesen dieselben Pherogrammeigenschaften auf.

Bei den Untersuchungen von GISSEL (1978) veränderten die Hauptbanden der myofibrillären Eiweiße ihre Position im pH - Gradienten bei der isoelektrischen Fokussierung durch die Lagerung nicht. PLEIN (1984) stellte bei einer achtwöchigen Lagerung tiefgefrorener Muskelextrakte von Hirsch und Schaf keine gravierenden Veränderungen fest. Die in dieser Arbeit durchgeführten Lagerungsversuche beim Hausschwein bestätigen die Ergebnisse von PLEIN.

D. 3.6. Tierartendifferenzierung

Die Einflüsse der Reifung sind für die Tierartendifferenzierung mit dem PAGIF - Verfahren offensichtlich von untergeordneter Bedeutung. Auch bei Tieren unterschiedlichen Alters (Rind, Haus- und Wildschwein) ist eine Differenzierung anhand der charakteristischen Banden möglich. Zwar ändern sich die Myoglobin- und Hämoglobinbanden, insbesondere bei den Haustieren, geringfügig in ihrer Konzentration, sie sind aber leicht und deutlich zu erkennen.

Für die Tierartendifferenzierung hat es sich als günstig und sinnvoll erwiesen, sog. charakteristische Hauptbanden für jede Tierart festzulegen, über die dann die Auswertung erfolgt (FÜHRLING und GERSONDE, 1980). Dazu dienen vor allem die Myoglobin- und Hämoglobinbanden (SINCLAIR und SLATTERY , 1981). Als charakteristische Banden für eine Tierart dürfen auch nur solche Banden angesprochen werden, die sich bei jedem Alter und bei allen Muskeln gleich und vor allem deutlich erkennen lassen.

Schwierigkeiten könnten sich bei unterschiedlichen Muskelproben ergeben. Besteht die Probe entweder nur aus der weißen oder nur aus der roten Muskulatur, ist eine eindeutige Identifizierung bzw. Zuordnung des Pherogramms zur jeweiligen Muskelart und damit eine einwandfreie Tierartendifferenzierung möglich. Eine Mischung der beiden Muskelgruppen kann die Interpretation erschweren.

Die untersuchten Wiederkäuerarten konnten anhand ihrer charakteristischen Banden erkannt werden. Selbst eine Differenzierung zwischen Reh- und Rotwild konnte mit Hilfe der charakteristischen Banden vorgenommen werden. Daher ist die bisher zu diesem Zweck notwendige Esterasefärbung, wie sie HEINERT und KLINGER (1980) vorgeschlagen hatten, nicht erforderlich.
Alle Wiederkäuerarten wiesen bei pH 5,6 die sog. Wiederkäuerbande auf, die überall gleichmäßig ausgebildet war. Bereits SINCLAIR und SLATTERY (1981) berichteten über diese Bande. Sie dient u.a. auch zum Trennen der Wiederkäuer von den Schweinearten. PLEIN (1984) konnte Rind, Schaf, Ziege, Reh, Hirsch und Damwild untereinander trennen und zum Hausschwein abgrenzen.

Das zweite, für die Tierartendifferenzierung interessante Problempaar, Haus- und Wildschwein, war bereits oft Gegenstand von Untersuchungen.
Bei den Untersuchungen von FÜHRLING und GERSONDE (1980) sah das Pherogramm des Wildschweins dem des Hausschweins sehr ähnlich. HEINERT und KLINGER (1980) konnten weder mit der normalen Proteinfärbung bei der PAGE noch mit der von ihnen zur Differenzierung von Reh- und Rotwild vorgeschlagenen Esterase - Färbung eine Trennung vornehmen. KÖNIG (1982) fand bei der Porositätsgradienten - PAGE eine sich qualitativ eindeutig unterschiedlich verhaltende Zone (Bande Nr. 5).
Zur Abgrenzung des Hausschweines vom Wildschwein konnte, im Gegensatz zu KÖNIG, nur eine von 2 möglichen Hämoglobin - Banden herangezogen werden. Diese trat in den Pherogrammen der Mm. adductores vom Wildschwein, nicht jedoch vom Hausschwein auf. In der Pars muscularis des Diaphragma war sie sowohl beim Haus- als auch beim Wildschwein vorhanden.
Das Pherogramm der Mm. adductores vom Ferkel zeichnete sich durch eine extrem stark konzentrierte Myoglobin - Bande gegenüber der beim Hausschwein als auch der des Wildschweines aus. Eine Möglichkeit zur Differenzierung besteht also auch bei Schweinen unterschiedlichen Alters.

D. 4. Erkenntnisse zur quantitativen Eiweißbestimmung der Muskelextrakte

Die Biuret - Reaktion ist die zur Zeit allgemein übliche Schnellmethode, um bei den elektrophoretischen Methoden eine Eiweißbestimmung der aufzutragenden Proben durchzuführen. Diese ist auch in der Methodensammlung zum § 35 LMBG für die Elektrofokussierung empfohlen. Da eine "Normalwert" - Bestimmung der Eiweißgehalte bei der Biuret - Reaktion der Konzentration der Eigenfarbe der Extrakte am wenigsten Rechnung trägt und bei der Hämoglobinbestimmung bzw. -korrektur nur die Farbe des Hämoglobins korrigiert wird, wurde das "Leerwert" - Verfahren zur Biuret - Methode angewandt, um Hinweise auf die in den Muskelextrakten vorhandene Konzentration zu erhalten.

In der bisher vorliegenden Literatur wurden in wenigen Fällen entweder der Gesamt - Stickstoff und die Stickstoffverteilung in den Muskeln oder die Myoglobinkonzentrationen (WILSON et al., 1959; LAWRIE et al., 1963, LAWRIE, 1970; EL-BADAWI und HAMM,1970) stellvertretend für die Proteinkonzentration bestimmt. DAVIS et al. (1985) stellten eine Veränderung der Konzentration (Abnahme) wasserlöslicher Proteine in Muskelextrakten mittels der Biuret-Methode bei Erhitzung fest.

LAWRIE et al. (1963) fanden bei der Gesamt - N - Bestimmung Unterschiede zwischen verschiedenen Muskeln beim Rind und Schwein. Sie führten dieses auf qualitative Unterschiede zwischen den Muskeln innerhalb einer Tierart zurück. Auch GISSEL (1978) beobachtete unterschiedliche Eiweißgehalte bei Schinken, Nacken und Kotelett vom Schwein, die in der angegebenen Reihenfolge zunahmen.

Bei den eigenen Untersuchungen bestätigten die geringfügig sich ändernden Eiweißwerte bei der Reifung die bei der Fokussierung erhaltenen Werte und lassen auf nur geringfügige Veränderungen durch die Reifung schließen.

Hingegen differierten die Eiweißwerte der einzelnen Muskeln deutlicher. Beim Rind konnte der bei der Fokussierung deutliche Unterschied zwischen roter und weißer Muskulatur auch bei der Eiweißbestimmung erkannt werden, nicht dagegen beim Schwein. Bei den Wildtieren wichen die Eiweißwerte der einzelnen Muskeln, vor

allem bei den Tierkörperteilen aus der Wildimportfirma nicht wesentlich voneinander ab. Bei der Fokussierung war der Unterschied zwischen weißer und roter Muskulatur ebenfalls nicht mehr so deutlich wie bei den Haustieren.

Die Werte der vorliegenden Untersuchungen lassen nicht nur auf qualitative Unterschiede der Muskelproteinzusammensetzung, z.B. unterschiedliche Enzymausstattung bei roter und weißer Muskulatur, schließen, sondern spiegeln insbesondere bei den Wildtieren die Anpassung an die funktionelle (Mehr-)Anforderung, wider.

Die Eiweißgehalte der Muskulatur von jungen und älteren Rindern und Schweinen wichen kaum voneinander ab. Es muß jedoch angemerkt werden, daß die Zeitspanne zwischen Ferkel und Schlachtschwein mit 4 Monaten,und zwischen Kalb und Schlachtbulle mit 11 Monaten zu kurz war, um eine konkrete Aussage zu treffen. Bei der Fokussierung fielen die Unterschiede vor allem in den Hämoglobin- und Myoglobinbanden auf. Daher würde sich bei einer alleinigen quantitativen Proteinbestimmung zum Vergleich verschieden alter Tiere eine Hämoglobinbestimmung der Muskelextrakte anbieten.

D. 5. Fleischqualitätsparameter der untersuchten Tiere

Die ermittelten pH - und Q - Werte bei den Haustieren decken sich mit den bereits ausreichend in neueren Arbeiten (ALI-SEID, 1983; HÄUSSERMANN, 1985) beschriebenen.

Die Untersuchungen wurden begleitend durchgeführt, um einen Hinweis auf eine möglicherweise abweichende Fleischqualität im Sinne von PSE oder DFD des bei der Fokussierung untersuchten Materials zu erhalten. Es traten bei fast einem Drittel der Hausschweine abweichende Fleischqualitäten im Sinne von deutlichen PSE - Abweichungen auf. Diese hatten keinen Einfluß auf die Pherogrammstruktur. KÖNIG (1982) fand bei PSE - Fleischproben eine Verringerung der Intensitäten der Myoglobin- und Hämoglobinbanden, während diejenige der A - Bande zunahm. PLEIN (1984) berücksichtigte diesen Gesichtspunkt nicht.

In dieser Arbeit konnten innerhalb der untersuchten Wildtierkollektive keine durch unterschiedliche Fleischqualitätsparameter (pH-, Q - Wert) bedingten Veränderungen der Pherogramme bei der Elektrofokussierung festgestellt werden. Die gefundenen Kriterien für eine Tierartenidentifizierung bzw. -differenzierung sind als so eindeutig anzusehen, daß Faktoren, wie z.B. Hetzen des Wildes bei der Jagd oder auch eine schlechte Ausblutung, von untergeordneter Bedeutung erscheinen.

Bei Wild wurden Fleischqualitätsparameter in neuerer Zeit wiederholt untersucht (KNIEWALLNER, 1969; REIFF und BAUER, 1976; LENZE, 1977; RIEMER und REUTER, 1979; REINCKEN, 1980; HADLOK und DIELSCHNEIDER, 1982; DIELSCHNEIDER, 1985). Die Angaben in der bestehenden Literatur erstrecken sich vornehmlich auf Rehwild. Für andere Wildtiergruppen sind sie noch unvollständig.

Die in dieser Arbeit ermittelten Werte wurden ebenfalls in Abhängigkeit vom verfügbaren Probenmaterial aus unterschiedlich großen Tierkollektiven gewonnen. Aufgrund der unterschiedlichen Untersuchungszeiten und Lagertemperaturen nach dem Erlegen sind die Werte nicht im wünschenswerten, vergleichbaren Umfang vorhanden, sie sind daher nur tendenziell zu beurteilen und mit den in der Literatur vorhandenen Werten aufgrund verschiedener Muskeln nur bedingt vergleichbar. Meist sind in der Literatur auch nur 1 bzw. 24 h p.m. Werte angegeben.

Die von RIEMER und REUTER (1979) untersuchten Rehwildtierkörper wiesen bei 42 % der Tiere einen pH_{24} in einem Bereich von 5,6 - 5,9 im M. gracilis auf. Der in den eigenen Untersuchungen in der Adduktorenmuskulatur ermittelte Mittelwert von pH 5,61 (14 Tiere) liegt in dem obengenannten Bereich. In den Untersuchungen von HADLOK und DIELSCHNEIDER (1982) wiesen rund 65 % von 42 Tieren einen pH_1 von 6,2 - 6,59 in den Muskeln semimembranosus, longissimus dorsi und triceps brachii auf. Nach 9 - 12 Stunden war der End - pH - Wert erreicht: 5,40 - 5,79 für die Mm. semimembranosus und longissimus dorsi und 5,60 - 5,99 für den M. triceps brachii. In weiteren Untersuchungen trennte DIELSCHNEIDER (1985) Kitze/ einjähriges/ mehrjähriges Rehwild. Für den M. semimembranosus fand er die folgenden Mittelwerte:

pH_1 6,28/ 6,40/ 6,39; pH_{12} 5,55/ 5,51/ 5,51 und pH_{96} 5,59/ 5,59/ 5,58. Dabei lagen die pH - Werte für M. semimembranosus und M. longissimus dorsi eng beieinander. Diese Daten decken sich weitgehend mit den eigenen Befunden, so daß bei dem vorliegenden eigenen Rehwilduntersuchungsmaterial von einer vergleichbaren Beschaffenheit ausgegangen werden kann.

REUTER (1985) bestimmte bei 11 erlegten Damwildtieren aus Gehegen in den Mm. adductores den pH - Wert. Der durchschnittliche pH_1 - Wert betrug 6,7. Die in dieser Arbeit ermittelten durchschnittlichen pH_{1-2}-Werte lagen um den Mittelwert 6,13 (ebenfalls Mm. adductores). Die selbst ermittelten pH_{24} - Werte lagen bei durchschnittlich 5,77 und damit in der Nähe der von REUTER gefundenen entsprechenden Werte von 5,66.

F. SCHLUßFOLGERUNGEN

Mit dem PAGIF - Verfahren auf fertig hergestellten 1 mm dicken Gelplatten steht dem Untersucher ein schnell durchzuführendes (5 1/2 Std.) sowie aussagekräftiges Verfahren für die Tierartendifferenzierung zur Verfügung.

Die Pherogramme der Wiederkäuer lassen eine Trennung in Rind, Reh-, Rot- und Damwild zu. Ein zusätzliches Trennverfahren, wie z.B. die Esterasefärbung, ist nicht notwendig. Die Abgrenzung der Wiederkäuer von Haus- und Wildschwein ist eindeutig möglich. Zur Abgrenzung des Wildschweines vom Hausschwein eignen sich besonders Proben der Mm. adductores.

Die mit der Reifung der Muskulatur zusammenhängenden Pherogrammänderungen sind so geringfügig, daß sie bei der Tierartendifferenzierung von untergeordneter Bedeutung sind.

Zwischen verschiedenen Muskeln eines Tierkörpers bestehen im Pherogramm sowohl qualitative als auch "deutlich" quantitative Unterschiede. Eine Einteilung in die verschiedenen Muskelarten (rote/ dunkle und weiße/ helle Muskulatur) erscheint für die Auswahl der Untersuchungsprobe und die Bewertung wichtig.

Schwierigkeiten können auftreten, wenn Muskelproben sowohl aus Anteilen der roten als auch der weißen Muskulatur bestehen. Es empfiehlt sich daher, die zu untersuchende Muskelprobe gezielt auszuwählen oder, falls dies in der Routinepraxis nicht möglich ist, zumindest vor dem Aufarbeiten makroskopisch zu differenzieren bzw. zu separieren. Bei Kenntnis der Muskelart ist eine Tierartendifferenzierung einfacher, anderenfalls treten zu den Unterschieden zwischen den Tierarten noch die Unterschiede zwischen den Muskelarten.

Die im Rahmen der unterschiedlichen Haltungsbedingungen vorgegebenen Bewegungsmöglichkeiten führen sowohl bei Haus- als auch bei Wildtieren zur Anpassung an die damit verbundenen Stoffwechselanforderungen der weißen Muskulatur. In den Pherogrammen wird dieses vornehmlich in den deutlich stärker konzentrierten Hämoglobin- und Myoglobinbanden der weißen Muskeln von in freier Wildbahn gehaltenen Wildtieren ersichtlich.

Bei verschieden alten Tieren der gleichen Spezies bestehen quantitative Unterschiede nur in den Myoglobin- und Hämoglobinbanden. Ihre Bedeutung als charakteristische Erkennungsbanden bleibt dennoch bestehen.

Einflüsse von Fütterung und Haltung bei Wildtieren bestehen wahrscheinlich nicht. Aufgrund der geringen Stückzahl der Proben sollten weitergehende Untersuchungen dieses Resultat absichern.

Einflüsse durch unterschiedliche Fleischqualitäten, z.B. PSE - Fleisch, sind als unbedeutend zu betrachten.

Bei der Aufarbeitung der Proben können die Muskeleiweiße mit Wasser extrahiert werden. Eine Erwärmung über 60° C ist zu vermeiden.

Als Referenzproben können sowohl Fleischproben als auch Muskelextrakte über einen längeren Zeitraum gelagert werden. Auch können Lyophilisate dafür verwendet werden.

Da es weder zu den gefürchteten Überladungen bei hohen Proteinkonzentrationen noch zum Verschwinden einiger Banden bei niedrigen Konzentrationen beim Einsatz 1 mm dicker PAGIF - Platten kommt, sind diese den dünneren Gelplatten vorzuziehen. Eine zeitaufwendige, teils mit Unsicherheiten behaftete Proteinbestimmung der Muskelextrakte mittels der Biuret - Methode ist bei den hier untersuchten Fragestellungen und bei dieser Methode (1 mm dicke PAGIF - Platten) nicht erforderlich.

G. ZUSAMMENFASSUNG

In den letzten Jahren hat die Tierartendifferenzierung mittels der isoelektrischen Fokussierung verstärkt Eingang in die Lebensmittelkontrolle gefunden. Die bisher nicht genügend berücksichtigten Einflüsse durch Alter und Haltung der Tiere sowie durch unterschiedliche Beschaffenheit der Muskelproben nach Morphologie, Topographie und Reifung sollten in der vorliegenden Arbeit überprüft werden. Zur Erfassung möglicher abweichender substantieller Beschaffenheit der Muskulatur wurden die Fleischqualitätskriterien (pH - Wert und Wasserbindungsvermögen) bestimmt. Hinsichtlich des Einsatzes von Referenzproben in der Analytik wurde auch die Lagerungsfähigkeit aufbereiteter Muskelextrakte untersucht. Auch wurde die Notwendigkeit einer Eiweißeinstellung beim PAGIF - Verfahren geprüft.

Die Parameter wurden mit Proben folgender Tierarten in wechselnden Ansätzen untersucht: Rind (n=100), Hausschwein (103), Wildschwein (96), Reh- (44), Rot- (20) und Damwild (15). Die Proben für die Reifung wurden 8 Tage bei + 4° C gelagert. Für den Vergleich der Muskeltopographie wurden bei den Haustieren die Mm. rhomboidei, adductores und longissimus dorsi sowie die Pars muscularis des Diaphragma, bei den Wildtieren die Mm. pectorales oder adductores und die Pars muscularis des Diaphragma herangezogen. Beim Altersvergleich wurden Proben von 2 bzw. 6 Monate (Hausschwein), 9 bzw. 20 Monate (Rind) und 6 Monate bis 10 Jahre (Wildschwein) alten Tieren untersucht. Lediglich je 2 Paare Schwarz- und Damwild standen für den Vergleich der Haltung zur Verfügung. Die Stabilitätsüberprüfungen des Probenmaterials wurde mit Muskelproben und Muskelextrakten, die jeweils bis zu 6 Monaten bei - 20° C gelagert wurden, und mit Lyophilisaten vorgenommen.

Die wäßrigen Muskelextrakte wurden mit dem PAGIF - Verfahren auf 1 mm dicken LKB Ampholine PAG - Platten untersucht. Gleichzeitig wurden auf 1 % Proteingehalt eingestellte und nicht eingestellte Muskelextrakte untersucht sowie die Aufnahmekapazität 1,0 und 0,5 mm dicker Platten verglichen.

Eine Tierartendifferenzierung war bei allen geprüften Tiergruppen und Fragestellungen möglich. Sie wurde nur durch einzelne Faktoren mehr oder weniger erschwert.

Die Pherogramme der Reifungsproben waren qualitativ identisch. Alle charakteristischen Proteinbanden waren vorhanden. Es zeigten sich jedoch quantitative Unterschiede, d.h. Intensitätsänderungen, bei einzelnen Banden. Diese waren beim Rind und Hausschwein deutlicher als bei den Wildtieren. Auffallend war bei den Wildtieren auch die geringere Zahl der sich verändernden Banden; beim Damwild zeigten sich keine Unterschiede.

Hinsichtlich der muskeltopographisch bedingten Einflüsse ließ sich bei allen Tierarten ein Unterschied zwischen sogenannter roter (Diaphragma: Pars musc., Mm. rhomboidei) und weißer (Mm. adductores bzw. pectorales und M. longissimus dorsi) Muskulatur erkennen. Es ergaben sich qualitative und deutlich quantitative Unterschiede, wobei zwischen beiden oft ein fließender Übergang vorhanden war. Im weißen Muskel zeigten sich höhere Konzentrationen einzelner Banden im alkalischen Bereich in der Zone einer aufgetragenen Laktatdehydrogenase - Lösung und bei dem roten im sauren Bereich in der Zone einer aufgetragenen Malatdehydrogenase - Lösung. Die Hämoglobin- und Myoglobinbanden waren bei der roten Muskulatur der Haustiere stärker ausgeprägt als bei der weißen. Bei den Wildtieren war dieser Unterschied, besonders durch eine stärkere Ausprägung dieser Banden in der weißen Muskulatur, geringer. Vermutlich ist dieses durch die funktionelle Beanspruchung der Muskulatur der Wildtiere bedingt.

Alle Wiederkäuerarten konnten unabhängig von der Muskelart anhand von charakteristischen Banden erkannt werden. Haus- und Wildschwein konnten anhand einer Hämoglobinbande abgegrenzt werden, die nur im Pherogramm der Mm. adductores vom Wildschwein, aber nicht beim Hausschwein, vorkam.

Einflüsse durch abweichende substantielle Beschaffenheit (11 PSE-Tiere von 36 Hausschweinen) konnten nicht festgestellt werden.

Beim Vergleich verschieden alter Tiere (Mm. adductores) fiel bei Hausschweinen auf, daß die Hämoglobin- und Myoglobinbanden bei den älteren Tieren schwächer ausgeprägt waren. Beim Rind verhielt es sich genau umgekehrt. Ferkel konnten aufgrund einer deutlich konzentrierten Myoglobinbande von Haus- und Wildschwein getrennt werden. Bei den in freier Wildbahn lebenden Wildschweinen

(4 Alterspaare) waren einige Myoglobinbanden bei den älteren Tieren stärker konzentriert.

Für den Vergleich zwischen Gatter- und Wildbahnhaltung bei Dam- und Schwarzwild konnten keine Tiere aus engbegrenzter Gatterhaltung untersucht werden. Die Frage nach dem Einfluß durch extrem unterschiedliche Haltungsformen muß daher offenbleiben.

Einflüsse durch verschiedene Lagerungsformen von Proben (tiefgefrorene Muskelproben bzw. Muskelextrakte über 6 Monate sowie Lyophilisate) auf das Pherogramm waren nicht erkennbar.

Eine Eiweißeinstellung der aufzutragenden Proben erwies sich als nicht erforderlich. Die Pufferkapazität bei 1 mm dicken Gelen reichte aus. Eine Überladung der Platten trat nur bei vergleichsweise mitgeführten, äußerst hohen Proteinkonzentrationen auf, die von den Muskelextrakten nie erreicht wurden. Der Großteil der Proben bewegte sich in einem Konzentrationsbereich von 15 - 35 mg/ ml. Die Unterschiede im Pherogramm bei nicht eingestellten Proben waren auch bei eingestellten Proben vorhanden.

Die Proteinbestimmung mit der Biuret - Methode und der Leerwertkorrektur erscheint wegen der Eigenfarbe der Pigmentproteine bei der photometrischen Messung nicht geeignet, den Eiweißgehalt exakt zu erfassen.

Die isoelektrische Fokussierung auf LKB - Ampholine PAG - Platten ist ein schnell durchzuführendes und aussagekräftiges Verfahren. Die Auswertung kann von einem erfahrenen Untersucher visuell vorgenommen werden. Eine densitometrische Auswertung kann bei der hier vorgestellten Fragestellung entfallen.

Aus den vorliegenden Ergebnissen läßt sich schlußfolgern, daß eine Tierartendifferenzierung mit der PAGIF - Methode möglich ist, selbst wenn gewisse qualitative und quantitative Unterschiede in den Pherogrammen in Abhängigkeit von den Einflußfaktoren des Alters der Tiere und der Art des untersuchten Muskels auftreten. Erforderlich erscheint eine gute Einarbeitung des Untersuchers und ein jeweiliges Mitführen geeigneter Referenzproben. Die Trennung des Probenmaterials in "rote" und "weiße" Muskulatur erleichtert die Identifizierung.

H. SUMMARY

In the last years the identification of animal species by isoelectrofocussing was established in food control. The aim of this thesis was to consider influences which have not been sufficiently tested up to now. These are influences of age and lifestock and of different structures of muscle samples in regard to tissue, topography and ripening. For registering substantial deviations of muscle the meat quality parameters (pH-values and water binding capacity) were measured. With regard to the usefulness of muscle samples as reference figures in the analytic system the capability of storing prepared muscle extracts was examined. The necessity of a protein standardization for using the PAGIF - technique should be tested, too.

The parameters were examined in variable combinations by samples of the following animals: cattle (n=100), pigs (n=103), wild boar (n=96), roe (n=44), red- (n=20) and damdeer (n=15). The ripening samples were stored during 8 days at + 4° C. For the comparison of muscle topography samples were taken of the mm. rhomboidei, adductores, longissimus dorsi and the pars musc. of diaphragma from the domestic animals. Moreover, samples of the mm. pectorales or adductores and the pars musc. of diaphragma were taken from wild animals. For the evaluation of the age of the animals 2 resp. 6 months (pigs), 9 resp. 20 months (cattle) and 6 months up to 10 years (wild boar) old animals were examined. Only 2 couples of wild boar and damdeer were available for the comparison of livestock. The duration of storage was tested by muscle samples and aqueous extracts, which were stored up to 6 months by - 20° C and by lyophilisates.

The aqueous muscle extracts were examined by the PAGIF - technique on 1 mm thick LKB Ampholine PAG - plates. At the same time standardized (1 % protein concentration) and non standardized muscle extracts were compared as well as the capacity for adsorbance of 1,0 and 0,5 mm thick plates.

The identification of species of animals was possible with all species of animals examined and the parameters which were tested. The identification was more or less complicated by individual factors.

The pherograms of the ripening samples were identical. All characteristic patterns of bands could be found. However, quantitative differences occurred, i.e. a change of intensity of single bands. This was more significant in the pherograms of cattle and pigs than those of wild animals. The reduced number of changed patterns with the wild animals was remarkable, too, there were no changes with damdeer.

With regard to the dependency of muscle topography a difference between red muscle (diaphragma pars musc., mm. rhomboidei) and white muscle (mm. adductores, pectorales, longissimus dorsi) was found for all animals. The examinations showed qualitative and distinct quantitative differences and sometimes a state of transition between them. Higher concentrations of some patterns could be seen for the white muscle in the zone of the lactat dehydrogenase solution in a higher pH-range and for the red muscle in the zone of the malatdehydrogenase solution in the lower pH - range. The patterns of haemoglobin and myoglobin of red muscle were more concentrated than those of the white muscle regarding the domestic animals. Regarding the wild animals the difference was smaller by more concentrated bands of haemoglobin and myoglobin in the white muscle. Presumably this is influenced by the more functional condition of wild animals.

All ruminants could be identified regardless to the muscle topography by their characteristic patterns. Pig and wild boar could be identified by a haemoglobin band, which existed in the mm. adductores of wild boar, but not in pig.

Influences of deviations in substantial meat quality (11 PSE animals of 36 pigs) could not be seen.

Comparing different aged animals (mm. adductores) the haemoglobin and myoglobin bands of 6 months old pigs were more concentrated than those of 2 months old pigs. At cattle it was opposite. The piglet could be identified by a more concentrated myoglobin band. At wild boar (only 4 couples, hold in hunting ground) some myoglobin bands of the older ones were more concentrated.

For the comparison of railing and hunting ground holding of damdeer and wild boar no animals of limited railing ground could be found. There is still the problem of possible influences of extreme variable holding forms.

Influences of different forms of storage (frozen muscle samples and extracts by - 20° C during a period of 6 months and lyophilisates) could not be found at pigs.

A protein standardization of the muscle extracts examined was not necessary. The buffering capacity of 1 mm thick plates was sufficient. An overloading could be only seen with extremely high reference concentrations, which were never reached by the muscle extracts. The majority of the samples showed a concentration range of 15 - 35 mg/ ml. The differences in the pherograms of non - standardized samples could be equally found in the pherograms of the standardized samples.

The protein determination by the biurettechnique and blank-wert-corretion seems not to be appropriate for the exact evaluation of protein concentration due to the colour of the pigmentproteins by the photometric measurement.

The isoelectrofocussing on LKB Ampholine PAG - plates is a quick and evidential method. The analysing could be done visually by a trained person. A densitometric analyses can be deleted by the mentioned problems.

Due to the present results there are the following conclusions: An identification of animal species by the PAGIF - technique will be possible even if there are qualitative and quantitative differences in the pherograms dependent on influences of age of the animals and topography of the examined muscle. A good training of the analysing person and the use of qualified reference samples are necessary. The separation of the samples in red and white muscle facilitates the identification of animals.

H. Anhang I

Tabellen 10 - 22

Abkürzungen

WS	: Wildschwein
Da	: Damwild
Re	: Rehwild
Ro	: Rotwild
Mon.	: Monate
Jah.	: Jahre
♂	: männlich
♀	: weiblich
W	: Wildbahn
G	: Gatterhaltung
R	: Untersuchung der Fleischreifung
M	: Vergleich verschiedener Muskelproben
A	: Vergleich verschieden alter Tiere
H	: Untersuchung der Haltung von Tieren
L	: Vergleich der Lagerformen und -dauer
1, 2, 3	: erster, zweiter, dritter Meßwert
$\bar{x}$	: arithmetischer Mittelwert

Tab. 10: Glykolyse (pH_1 - Wert) und Wasserbindung (Q_1 - Wert) der Muskulatur (Mm. adductores) von Schweineschlachttierkörpern sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Temp.	pH - Wert 1	pH - Wert 2	pH - Wert $\bar{x}$	Q - Wert 1	Q - Wert 2	Q - Wert $\bar{x}$	♂ ♀	verwendet für
I 1	40,0	5,50	5,90	5,70	0,70	-	-	♀	M L
I 2	39,9	6,20	5,90	6,05	0,59	0,59	0,59	♀	M
I 3	40,2	5,70	5,50	5,60	0,83	-	-	♀	M L
I 4	40,3	5,40	5,80	5,60	0,50	0,60	0,55	♀	M L
I 5	39,6	5,70	5,30	5,50	0,46	0,70	0,58	♂	M L
I 6	40,0	5,20	5,40	5,30	0,70	-	-	♀	M
I 7	39,9	5,50	5,30	5,40	0,51	0,59	0,55	♂	M
I 8	39,9	6,10	5,90	6,00	0,62	-	-	♀	M
I 9	40,5	5,50	5,80	5,65	0,59	0,44	0,52	♀	M
I 10	40,1	6,60	6,10	6,35	0,62	0,59	0,61	♂	M
I 11	39,1	5,90	6,20	6,05	0,66	0,84	0,75	♀	M
I 12	39,9	6,30	5,90	6,10	0,70	-	-	♂	M
I 13	40,5	6,20	6,00	6,10	0,59	0,51	0,55	♀	M
I 14	41,2	5,50	5,30	5,40	0,44	0,59	0,52	♂	M
I 15	40,9	5,50	5,80	5,65	0,51	-	-	♀	M
I 16	40,0	5,70	5,60	5,65	0,39	0,39	0,39	♀	R
I 17	39,9	5,60	5,80	5,70	0,47	0,34	0,41	♂	R
I 19	40,8	5,60	5,50	5,55	0,42	0,38	0,40	♀	
I 20	41,2	5,50	5,60	5,55	0,44	0,38	0,40	♀	R
I 21	40,4	5,70	5,90	5,80	0,51	0,44	0,48	♀	R
I 22	39,1	5,30	5,50	5,40	0,54	0,51	0,53	♂	R
I 24	40,8	5,40	5,60	5,50	0,35	0,51	0,43	♀	R
I 26	40,9	5,70	5,50	5,60	0,46	0,39	0,43	♀	R
I 27	40,3	5,30	5,60	5,45	0,51	0,54	0,53	♂	R
I 30	40,9	5,90	5,80	5,85	0,51	0,64	0,58	♀	R
II 1	39,5	6,65	6,72	6,69					R A L
II 2	39,0	5,94	5,64	5,79					R A L
II 3	38,6	6,11	5,92	6,02					R A L
II 4	38,3	5,96	6,03	6,00					A L
II 5	38,6	6,43	6,12	6,28					A L
II 6	39,8	5,94	6,11	6,03					L

sowie Muskelproben von neun weiteren Schweinen für die Untersuchung der Fleischreifung

——— : deutlich PSE = pH $\leq$ 5,6, $Q_1 \leq$ 0,5 \ Einteilung nach REUTER (1982)
– – – : geringfügig PSE = pH >5,6 und <5,8 / und HÄUßERMANN (1985)

Tab. 11: Glykolyse (pH_1 - Wert) und Wasserbindung (Q_1 - Wert) der Muskulatur von Rinderschlachttierkörpern sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Temp.	pH - Wert			Q - Wert			verwendet für		
		1	2	$\bar{x}$	1	2	$\bar{x}$			
I 1	32,8	5,70	5,80	5,75	-	-	-	R	M	
I 2	30,5	6,61	6,50	6,56	0,51	-	-	R	M	
I 3	33,5	6,10	6,04	6,07	0,59	-	-	R	M	
I 4	27,1	5,96	6,60	6,28	0,51	-	-		M	
I 5	37,4	6,12	6,12	6,12	0,54	-	-	R	M	
I 6	37,8	6,81	6,55	6,68	0,51	0,51	0,51	R	M	
I 7	30,5	6,12	6,13	6,13	0,59	0,59	0,59	R	M	
I 8	33,6	6,13	6,03	6,08	0,44	0,51	0,48	R	M	
I 9	37,9	6,50	6,50	6,50	0,44	0,42	0,43	R	M	
I 10	35,0	6,52	6,53	6,53	-	-	-	R	M	
I 11	37,7	6,81	6,55	6,68	0,83	0,70	0,77		M	A
I 12	36,5	6,20	6,55	6,38	0,70	0,70	0,70		M	A
I 13	36,9	6,74	6,97	6,86	0,70	-	-		M	
I 14	37,3	6,77	6,80	6,79	0,46	0,70	0,58		M	
I 15	33,6	6,88	6,74	6,81	0,59	-	-		M	A
I 16	31,8	6,74	6,35	6,55	0,51	0,46	0,49		M	
I 17	38,5	6,19	6,06	6,13	0,70	-	-		M	A
I 18	31,9	6,90	6,81	6,86	0,70	-	-		M	A
I 19	38,8	6,66	6,82	6,74	0,70	-	-			
I 20	34,3	6,76	6,66	6,71	0,70	-	-			
II 1	35,6	7,17	7,02	7,10	0,62	0,59	0,61	R		
II 2	37,7	7,01	6,93	6,97	0,54	0,70	0,62	R		
II 3	37,0	6,38	6,54	6,46	0,51	0,51	0,51	R		
II 4	38,9	6,87	6,92	6,90	0,39	0,59	0,49	R		
II 5	36,3	6,85	6,94	6,90	0,59	0,59	0,59	R		
II 6	38,2	6,80	6,97	6,89	0,70	0,64	0,67	R		
II 7	38,8	6,94	6,92	6,93	0,59	0,59	0,59	R		
II 8	37,8	6,52	6,87	6,70	0,44	0,59	0,52	R		
II 9	36,3	6,92	7,06	6,99	0,59	0,64	0,62	R		
II 10	37,1	7,25	7,05	7,15	0,70	-	-			
II 11	35,8	6,94	6,02	6,48	0,51	0,51	0,51			
II 12	36,2	6,97	6,94	6,96	-	-	-			

Alle Rinder waren männlich und 20 Monate alt.
Die Messungen der pH - Werte erfolgten im M. longissimus dorsi in Höhe der 13. Rippe, die der Q - Werte in den Mm. adductores.
—— Merkmal für eine abweichende Qualität (substantielle Beschaffenheit) nach ALI - SEID (1983)

Tab.12a: Glykolyse (pH - Werte) von Rotwild - Importteilen (Mm. pectorales) nach dem Auftauen

Tier-Nr	pH - Werte 1	2	3	$\bar{x}$
RoRO I1	5,68	5,71	5,71	5,70
RoRO I2	5,68	5,71	5,71	5,70
RoRO I3	5,62	5,63	5,64	5,63
RoRO I4	5,67	5,68	5,63	5,66
RoRO I5	6,39	6,30	6,30	6,33
RoRO I6	5,68	5,72	5,84	5,75
RoRO I7	5,76	5,75	5,75	5.75
RoRO I8	5,71	5,75	5,72	5,73

Tab.12b: Glykolyse (pH - Werte) von Wildschwein - Importteilen (Mm. pectorales) nach dem Auftauen

Tier-Nr	pH - Werte 1	2	3	$\bar{x}$
WSRO 1	5,61	5,50	5,59	5,57
WSRO 2	5,96	5,95	6,11	6,01
WSRO 3	6,03	6,15	6,16	6,11
WSRO 4	5,87	5,88	5,85	5,87
WSRO 5	6,15	6,28	6,25	6,23
WSRO 6	5,55	5,56	5,58	5,56
WSRO 7	6,16	6,38	6,07	6,20
WSRO 8	5,62	5,60	5,59	5,60

---

von den 13 untersuchten Rehwildimportteilen (Mm. pectorales) lagen keine pH - Werte vor

Tab. 13: Glykolyse (pH - Wert), Wasserbindung (Q - Wert) und Temperatur der Muskulatur (Mm. adductores) von Wildschweintierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♂♀	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	4	x̄	Q - Wert 1	2	x̄	Temperatur 1	2	3	x̄	verwendet für
WS 1	1 Jah.	♂	W	19	6,00	6,10	6,20		6,10	0,54	0,53	0,54	9,6	9,7	9,7	9,7	
WS 2	5 Mon.	♀	W	10	5,70	5,85	5,69		5,63	0,58	0,58	0,58	8,2	9,0	9,1	8,77	
WS 3	1 Jah.	♂	W	6	5,65	5,45	5,40		5,50	0,44	0,42	0,43	21,5	22,5	21,7	21,9	
WS 4	6 Mon.	♂	W	3	5,60	5,55	5,85		5,68	0,47	0,50	0,49	4,8	5,2	4,9	4,97	
WS 5	6 Mon.	♀	W	17	5,55	5,45	5,50		5,50	0,66	0,56	0,61	10,0	10,0	10,1	10,0	
WS 6	7 Mon.	♂	W	15	5,45	5,45	5,65		5,52	0,64	0,65	0,65	15,2	15,3	15,3	15,3	
WS 7	5 Mon.	♂	W	17	5,65	5,35	5,35		5,45	0,46	0,40	0,43	13,1	13,0	12,9	13,0	
WS 8	8 Mon.	♀	G	1	6,00	6,15	5,75		5,97	0,65	0,60	0,63	30,8	32,9	31,9	31,87	
				24	5,65	5,15	5,55		5,62	0,46	0,50	0,48	3,9	3,2	3,1	3,4	
WS 9	6 Mon.	♂	W	54	5,55	5,55	5,25		5,45	0,60	0,50	0,55	1,3	1,1	1,0	1,13	
WS 10	6 Mon.	♀	W	2	5,75	5,45	5,50		5,57	0,46	0,63	0,55					R
WS 11	6 Mon.	♀	W	2	6,00	5,80	5,95		5,82	0,46	0,41	0,44					R
WS 12	8 Mon.	♂	W	14	5,45	5,50	5,55		5,50	0,58	0,50	0,54					
WS 13	8 Mon.	♂	W	16	5,95	5,95	5,75		5,88	0,49	0,62	0,56					R
WS 14	8 Mon.	♂	G	24	5,75	5,70	5,90		5,78	0,50	0,52	0,51					
WS 15	1 Jah.	♂	W	16	5,50	5,65	5,60		5,58	0,54	0,62	0,58					
WS 16	5 Mon.	♀	W	40	5,65	5,65	5,55		5,62	0,56	0,51	0,54					
WS 17	7 Mon.	♂	G	1	5,75	5,75	5,85		5,78	0,58	0,42	0,50					R
WS 18	7 Mon.	♀	G	1	5,50	5,65			5,58	0,58	0,56	0,57					R
WS 19	8 Mon.	♀	G	18	5,50	5,55	5,55		5,53	0,52	0,58	0,55					R H
WS 20	8 Mon.	♀	G	18	5,55	5,75	5,55		5,62	0,58	0,62	0,60					

Tab. 14: Glykolyse (pH - Wert), Wasserbindung (Q - Wert) und Temperatur der Muskulatur (Mm. adductores) von Wildschweintierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♂♀	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	4	$\bar{x}$	Q - Wert 1	2	$\bar{x}$	Temperatur 1	2	3	$\bar{x}$	verwendet für
WS 21	4 Mon.	♀	W	16	5,70	5,65	5,55		5,63	0,77	0,65	0,71					
WS 22	7 Mon.	♂	W	14	6,00	5,50	5,55	5,85	5,73	0,62	0,56	0,59					
WS 23	8 Mon.	♂	G	66	5,50	5,65	5,65		5,62	0,63	0,63	0,63					
WS 24	8 Mon.	♀	G	66	5,55	5,55	5,55		5,55	0,56	0,53	0,55					
WS 25	3 Jah.	♂	W	15	5,65	5,70	5,65		5,67	0,56	0,51	0,54					
WS 26	8 Mon.	♂	W	16	5,85	5,65	5,60		5,70	0,42	0,58	0,50					R
WS 27	8 Mon.	♂	W	12	5,75	5,85	5,65		5,75	0,58	0,51	0,55					R
WS 28	8 Mon.	♂	W		5,65	5,75	5,70	5,85	5,74	0,68	0,51	0,60					
WS 29	3 Mon.	♂	G	3	6,10	6,00	5,95		6,02	0,51	0,58	0,55					
WS 30	8 Mon.	♂	W	71	5,45	5,50	5,55		5,50	0,52	0,54	0,53					
WS 31	10 Mon.	♀	W	17	5,50	5,45	5,50		5,48	0,58	0,58	0,58					
WS 32	10 Mon.	♀	W	9	5,55	5,50	5,55		5,30	0,68	0,68	0,68					
WS 33	10 Mon.	♂	W	3	5,40	5,35	5,65	5,65	5,53	0,68	0,68	0,68					
WS 34	10 Mon.	♂	W	16	5,45	5,50	5,55		5,50	0,68	0,69	0,69					
WS 35	10 Mon.	♂	W	14	5,45	5,45	5,45		5,45	0,58	0,58	0,58					
WS 36	10 Mon.	♀	W	16	5,75	5,50	5,65		5,63	0,60	0,60	0,60					
WS 37	10 Jah.	♀	W	38	5,50	5,55	5,55		5,53	0,50	0,47	0,49					
WS 38	11 Mon.	♀	W	34	5,55	5,50	5,55		5,53	0,64	0,65	0,65					R H
WS 39	11 Mon.	♀	G	5	5,53	5,55	5,75		5,61	0,32	0,37	0,35					
WS 40	11 Mon.	♀	G	5	5,50	5,50	5,45		5,48	0,69	0.77	0,73					
WS 41	1 3/4 Jah.	♂	W	46	6,05	5,75	5,90	6,15	5,96	0,61	0,62	0,62					

Tab. 15: Glykolyse (pH - Wert), Wasserbindung (Q - Wert) und Temperatur der Muskulatur (Mm. adductores) von Wildschweintierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♀♂	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	4	$\bar{x}$	Q - Wert 1	2	$\bar{x}$	Temperatur 1	2	3	$\bar{x}$	verwendet für
WS 42	11 Mon.	♀	W	73	5,65	5,65	5,60	5,75	5,71	0,62	0,69	0,66					
WS 43	11 Mon.	♂	W	45	5,55	5,55	5,65		5,58								
WS 44	10 Jah.	♂	W	12	5,65	5,45	5,55		5,55								
WS 45	10 Mon.	♀	W	8	5,55	5,75	5,45	5,85	5,65	0,64	0,69	0,67					
WS 46	2 Jah.	♀	W	12	5,50	5,50	5,50		5,50	0,60	0,54	0,57					
WS 47	10 Mon.	♂	W	13	5,35	5,45	5,65		5,48	0,58	0,58	0,58					
WS 48	3 Jah.	♀	W	16	5,50	5,45	5,45		5,48	0,40	0,50	0,45					
WS 49	11 Mon.		W	42	5,60	5,65	5,70		5,65	0,38	0,39	0,39					
WS 50	11 Mon.		W	38	5,45	5,45	5,65		5,52	0,58	0,50	0,54					
WS 51	11 Mon.		W	39	5,45	5,55	5,45		5,48	0,60	0,56	0,58					
WS 52	11 Mon.		W	42	5,65	5,65	5,65		5,65	0,46	0,46	0,46					
WS 53	11 Mon.	♂	W	63	5,45	5,45	5,40		5,43	0,62	0,58	0,60					
WS 54	11 Mon.	♀	G	2	5,70	5,65	5,85		5,73	0,79	0,71	0,75					R
WS 55	11 Mon.	♂	G	2	6,10	5,85	6,15		6,03	0,64	0,68	0,66					R
WS 56	11 Mon.	♀	W	72	5,55	5,50	5,55		5,53	0,60	0,50	0,55					H
WS 57	11 Mon.	♂	W	16	5,55	5,45	5,50		5,50	0,65	0,55	0,60					
WS 58	10 Mon.	♀	G	1	6,40	6,55	6,75	6,80	6,63	0,69	0,69	0,69					H
WS 59	11 Mon.	♂	W	14	5,45	5,45	5,50		5,48	0,52	0,50	0,51					R
WS 60	8 Jah.	♂	G	1	6,70	6,65	6,75		6,70	0,78	0,77	0,78					
WS 61	10 Mon.	♀	W	12	5,50	5,40	5,50		5,48	0,64	0,62	0,63					
WS 62	2 Jah.	♀	W	12	5,55	5,55	5,65		5,58	0,79	0,78	0,79					

Tab. 16: Glykolyse (pH - Wert), Wasserbindung (Q - Wert) und Temperatur der Muskulatur (Mm. adductores) von Wildschweintierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♂♀	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	4	x̄	Q - Wert 1	2	x̄	Temperatur 1	2	3	x̄	verwendet für
WS 63	11 Mon.	♂	W	38	5,60	5,60	5,65		5,62	0,68	0,60	0,64					
WS 64	11 Mon.	♀	W	37	5,60	5,55	5,55		5,58	0,58	0,64	0,61					
WS 65	11 Mon.	♂	W	40	5,55	5,60	5,55		5,58	0,69	0,62	0,66					
WS 66	11 Mon.		W	38	5,55	5,60	5,55		5,58	0,51	0,64	0,58					
WS N 1	9 Mon.	♂	W	12	6,50	6,80			6,65	0,60	0,63	0,62					M A
WS N 2	6 Mon.	♂	G	21	6,20	5,80			6,00	0,44	0,36						M
WS N 3	11 Mon.	♀	W														M
WS N 4	11 Mon.	♂	W	17	6,88	6,90			6,89								M
WS N 5	11 Mon.	♂	W														M
WS N 6	12 Mon.	♀	W														M A
WS N 7	6 Jah.		W														M A
WS N 8	11 Mon.	♂	W														M
WS N 9	1 1/2 Jah.	♂	W														M
WS N 10	10 Mon.	♀	W														M A
WS N 11	8 Jah.	♂	W														M A
WS N 12	4 Jah.	♀	W														M A
WS N 13	11 Mon.	♀	W														M
WS N 14	1 1/2 Jah.	♂	W														M
WS N 15	8 Mon.	♀	W														M
WS N 16	8 Mon.	♀	W														M A
WS N 17	8 Mon.	♀	W														M

Die Daten WS 1 - 66 wurden von A. HAGENLOCHER (1982/83) erhoben.

Tab. 17: Glykolyse (pH - Wert), Wasserbindung (Q - Wert) und Temperatur der Muskulatur (Mm. adductores) von Rehwildtierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♀♂	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	4	x̄	Q - Wert 1	2	x̄	Temperatur 1	2	3	x̄	verwendet für
Re 1	2 1/2 Jah.	♀	W	6	5,55	5,55	5,55		5,55	0,60	0,62	0,61	16,7	16,9	16,5	16,7	
Re 2	4 Jah.	♀	W	6	5,35	5,45	6,20	6,15	5,79	0,44	0,42	0,43	29,6	29,4	29,1	29,37	
Re 3	6 Mon.	♂	W	42	5,65	5,65	5,65		5,65	0,58	0,58	0,58	6,0				
Re 4	2 Jah.	♀	W	70	5,35	5,35	5,00		5,23	0,49	0,49	0,49	0,7	0,7	0,6	0,7	
Re 5	6 Jah.	♀	W	41	5,65	5,60	5,55		5,60	0,77	0,75	0,76	2,4	2,1	2,3	2,27	
Re 6	4 Jah.	♀	W	22	5,20	5,25	5,35		5,22	0,49	0,56	0,53					
Re 7	6 Mon.	♀	W	22	5,50	5,55	5,65		5,57	0,54	0,49	0,52					
Re 8	1 Jah.	♂	W	26	5,70	5,65	5,65		5,67	0,56	0,45	0,51					
Re 9	2 Jah.	♂	W	2	6,10	6,00	6,20		6,10	0,51	0,60	0,56					
Re 10	3 Jah.	♀	W	17	5,55	5,75	5,85		5,72	0,62	0,68	0,65					
Re 11	8 Mon.	♀	G	3	5,60	5,50	5,55		5,55	0,51	0,51	0,51					
Re 12	9 Mon.	♂	W	17	5,75	5,65	5,70		5,70	0,66	0,67	0,67					
Re 13	1 1/2 Jah.	♀	W	3	5,35	5,65	5,35	5,30	5,41	0,79	0,87	0,83					
Re 14	9 Mon.	♀	W	5	5,50	5,50	5,35		5,45	0,75	0,79	0,77					R
Re 15	2 Jah.	♀	W	63	5,65	5,60	5,65		5,63	0,79	0,78	0,79					
Re 16		♀	W	4	5,45	5,40	5,45		5,43	0,60	0,69	0,65					R
Re 17	9 Mon.	♂	W	2	6,25	6,30	6,15		6,23	0,77	0,79	0,78					R
Re 18	9 Mon.	♂	W	10	5,85	5,95	5,85		5,88	0,77	0,79	0,78					R
Re N 1	10 Jah.	♀	W	18	5,80	5,70			5,75								R M
Re N 2	9 Mon.	♀	W	18	5,80	6,00			5,90	0,71	0,70	0,71					R M
Re N 3	2 Jah.	♀	W														M
Re N 4	3 1/2 Jah.	♀	W														M

Tab. 18: Glykolyse (pH - Wert) und Wasserbindung (Q - Wert) der Muskulatur (Mm. adductores) von Damwildtierkörpern (Gatter Rothenburg, Wildbahn Märfelden) nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♂♀	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	x̄	Q - Wert 1	2	x̄	verwendet für
DaR 1	4 Jah.	♂	G	2	6,70	6,55	6,50	6,58	0,75	0,70	0,73	
DaR 2	1 1/2 Jah.	♂	G	2	6,25	5,85	6,00	6,03	0,69	0,72	0,71	
DaR 3	1 1/2 Jah.	♂	G	2	6,00	6,35	6,35	6,25	0,64	0,54	0,59	
DaR 4	1 1/2 Jah.	♂	G	2	6,70	6,65	6,30	6,55	0,81	0,68	0,75	
DaR 5	1 1/2 Jah.	♂	G	2	6,50	5,45	6,55	6,33	0,67	0,67	0,67	
DaR 6			W	2	6,05	6,00	5,80	5,95	0,66	0,73	0,70	R
DaR 7			W	2	6,35	6,35	6,40	6,37	0,75	0,75	0,75	R
DaR 8	5 x	4 1	W	2	6,30	6,35	6,50	6,38	0,83	0,77	0,80	R
DaR 9	1 1/2 Jah.	♂♀	W	2	6,05	6,15	6,15	6,12	0,52	0,50	0,51	
DaR 10			W	2	6,45	6,25	6,15	6,28	0,60	0,67	0,64	
DaR 11	1 x	♀	W	2	5,90	5,85	5,90	5,88	0,53	0,57	0,55	
DaR 12	2 1/2 Jah.		W	2	6,30	6,35	6,15	6,27	0,56	0,56	0,56	
DaR 13			W	2	5,85	5,75	6,05	5,88	0,67	0,71	0,69	R
DaR 14	6 x	3 3	W	2	5,75	5,50	5,70	5,65	0,61	0,66	0,64	
DaR 15	5 Mon.	♂♀	W	2	6,20	6,40	6,25	6,28	0,77	0,85	0,81	R
DaR 16			W	2	6,55	6,55	6,60	6,57	0,74	0,77	0,76	R
DaR 17			W	2	5,95	6,05	5,85	5,95	0,70	0,70	0,70	R

Die Daten DaR 1 - 17 wurden von A. HAGENLOCHER (1982/83) erhoben.

Tab. 19: Glykolyse (pH - Wert), Wasserbindung (Q - Wert) und Temperatur der Muskulatur (Mm. adductores) von Damwildtierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♂♀	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	4	x̄	Q - Wert 1	2	x̄	Temperatur 1	2	3	x̄	verwendet für
Da 1	17 Mon.	♂	G	1	6,60	6,65	6,40		6,55	0,56	0,58	0,57	41,7	39,2	39,5	40,13	
				24	5,70	5,75	5,65		5,70	0,60	0,56	0,58	12,6	12,4	12,3	12,43	
Da 2	17 Mon.	♂	G	1	6,70	6,50	6,45		6,55	0,60	0,56	0,58	38,6	40,2	41,1	40,07	
				24	5,60	5,70	5,65		5,65				12,3	12,8	11,7	12,27	
Da 3	1 1/2 Jah.	♂	W	42	5,65	5,55	5,65		5,62	0,38	0,35	0,37	3,2	2,7	2,1	2,67	R H
Da 4	1 1/2 Jah.	♂	G	2	5,65	5,65	5,55		5,62	0,40	0,47	0,44	37,3	36,2	36,1	36,53	H
Da 5	1 1/2 Jah.	♀	G	2	6.00	6,25	6,20		6,15	0,60	0,66	0,63	28,5	35,7	32,6	32,27	
Da 6	9 Jah.	♀	W	18	5,65	5,65	5,60		5,63	0,59	0,58	0,59					
Da 7	1 1/2 Jah.	♀	W	36	5,65	5,85	5,70		5,73	0,65	0,70	0,67					
Da 8	1 1/2 Jah.	♂	W	2	6,35	6,25	6,30		6,30	0,77	0,63	0,70					
Da 9	1 1/2 Jah.	♂	W	2	6,05	6,10	6,30	6,00	6,11	0,64	0,64	0,64					R H
Da 10	1 1/2 Jah.	♂	G	1	5,85	5,65	5,85		5,78	0,74	0,65	0,70					R H
Da 11	1 1/2 Jah.	♀	G	1	5,50	5,80	5,85		5,72	0,69	0,60	0,65					R
Da 12	8 Mon.	♀	G	1	5,90	5,90	5,85		5,88	0,74	0,74	0,74					
Da 13	7 Mon.	♀	W	21	5,50	5,55	5,55		5,53	0,58	0,63	0,61					
Da 14	8 Mon.	♀	W	21	5,55	5,50	5,60	5,55	5,54	0,65	0,66	0,66					R
Da 15	7 Jah.	♀	W	21	5,60	5,65	5,60		5,62	0,70	0,69	0,70					
Da 16	10 Mon.	♀	W	6	5,35	5,35	5,45		5,38	0,71	0,75	0,73					
Da 17	10 Jah.	♀	W	16	5,45	5,55	5,65		5,55	0,66	0,59	0,63					
Da 18	11 Mon.	♀	W	2	6,20	6,00	5,85	5,85	5,98	0,75	0,79	0,77					R
Da 19	2 Jah.	♂	W	4	6,35	6,15	6,50	6,35	6,34	0,79	0,78	0,79					

Die Daten Da 1 - 23 wurden von A. HAGENLOCHER (1982/83) erhoben.

Tab. 20: Glykolyse (pH - Wert), Wasserbindung (Q - Wert) und Temperatur der Muskulatur (Mm. adductores) von Damwildtierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♂♀	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	4	$\bar{x}$	Q - Wert 1	2	$\bar{x}$	Temperatur 1	2	3	$\bar{x}$	verwendet für
Da 20	2 Jah.	♂	W	87	5,60	5,55	5,60		5,58	0,51	0,68	0,60					
Da 21	10 Mon.	♂	W	64	5,60	5,55	5,55		5,57	0,68	0,53	0,61					
Da 22			W	50	5,70	5,65	5,65		5,67	0,64	0,58	0,61					
Da 23		♂															

Tab. 21: Glykolyse (pH - Wert) und Wasserbindung (Q - Wert) der Muskulatur (Mm. adductores) von Rotwildtierkörpern nach dem Erlegen sowie die Verwendung der Muskelproben

Tier-Nr	Alter	♂♀	W/G	Zeit h pm	pH - Wert 1	2	3	$\bar{x}$	Q - Wert 1	2	$\bar{x}$	verwendet für
Ro 1	6 Jah.	♀	G	17	5,60	5,65	5,55	5,60	0,51	0,51	0,51	R
Ro 2	2 Jah.	♂	G	2	5,65	5,35	5,65	5,53	0,53	0,56	0,55	R
Ro N 1	9 Jah.	♂	G	47	5,70	5,70		5,70	0,51	0,51	0,51	R M

Die Daten von Ro 1 + 2 wurden von A. HAGENLOCHER (1982/83) erhoben.

Tab. 22: Damwild aus Gehege, pH - Wert - Untersuchungen, REUTER, Persönliche Mitteilung (1985)

Gehege Romenthal: Abschuß aus Rudel von 10 Stück bei zunehmender Hetze

Nr	Alter	♂♀	Lebendgewicht kg	Abschußart	pH - Werte in Mm. adductores, Kühlungsbeginn mit + 5 bis 4° C: 1	2	3	4	5	24	72	120 h
1	14 Mon.	♂	44,7	Kopf		6,00	5,70			5,40	5,45	5,70
2	"	"	43,7	Blatt	6,80		6,50			5,50	5,40	5,50
3	"	"	42,5	"	6,80		6,00			5,60	5,40	5,60
4	"	"	46,0	"	6,70	6,10				5,65	5,40	5,70
5	"	"	44,5	"	6,70	6,55				5,80	5,75	6,00
6	"	"	41,0	"	6,70	6,45				5,40	5,55	5,70
7'	"	"	37,5	Kopf'''	6,80					6,25	6,20	6,40
					x̄ 6,75					5,66	5,60	5,80

'stark gehetzt
"gut genährt
"'erhöhter Blutgehalt

Gehege Bocksberg: Abschuß aus Rudel von 80 Stück, ruhiger Abschuß, Luftkühlung bei ca. 18° C

8	14 Mon.	♂	22	Blatt	6,70		6,40	5,80	5,50	
9	"	♂	33,8	"	6,70	6,10		5,90	5,50	
10	10 Jah.	♀	47	"	6,60	6,60	6,45	6,10	5,65	
11	14 Mon.	♂	26,5	"	6,70	6,60	6,50		5,75	
					x̄ 6,70				5,60	

I. Anhang II

Tabellen 23 - 31

Abkürzungen

M : Monate
J : Jahre
♂ : männlich
♀ : weiblich
$\bar{x}$: arithmetischer Mittelwert
min.: Minimum
max.: Maximum
s : Standardabweichung

Tab. 23: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei der Reifung von Rinderschlachttierkörpern (Mm. rhomboidei)

Nr. / Tag	1	2	3	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$	min. - max.	s
0	16,5	15,8	20,3	16,3	16,9	12,4	18,4	15,4	12,2	16,0	12,2 - 20,3	2,6
1	19,6	36,3	16,5	18,2	17,1	15,4	16,3	19,9	15,8	19,5	15,4 - 36,3	6,5
2	17,3	36,3	12,5	15,6	15,6	14,3	13,7	13,1	14,3	17,0	12,5 - 36,3	7,4
3	16,7	11,8	15,2	13,5	19,0	12,0	16,3	17,5	14,3	15,1	11,8 - 15,0	2,5
4	15,8	12,2	11,8	16,2	14,6	11,4	18,8	19,2	12,7	14,7	11,8 - 19,2	3,0
5	14,6	13,3	13,1	16,5	16,7	8,6	14,6	20,9	13,9	14,7	8,6 - 20,9	3,3
6	16,3	10,3	10,6	15,0	12,9	16,5	10,8	18,0	9,9	13,4	9,9 - 18,0	3,1
7	16,3	20,1	13,3	19,2	11,6	15,8	16,7	20,9	13,7	16,4	11,6 - 20,9	3,2
$\bar{x}$	16,6	19,5	14,2	16,3	15,6	13,3	15,7	18,1	13,7			
min.	15,8	11,8	10,6	13,5	12,9	8,6	10,8	13,1	9,9			
max.	19,6	36,3	20,3	19,2	19,0	16,5	18,8	20,9	15,8			
s	1,4	10,8	3,1	1,8	2,4	2,7	2,6	2,7	1,8			

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

Tab. 24: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei der Reifung von Hausschweineschlachttierkörpern (Mm. rhomboidei)

Nr.	26	24	22	16	17	20	x̄	min. - max.	s
Tag									
0	27,4	27,6	27,4	17,5	21,7	27,7	24,9	17,5 - 27,7	4,3
1	15,2	23,2	20,1	19,4	17,7	25,1	20,1	15,2 - 25,1	3,6
2	19,6	20,9	23,2	18,6	20,9	22,4	21,2	18,6 - 23,2	2,1
3	19,8	20,5	22,8	17,3	16,5	21,5	19,7	16,5 - 22,8	2,4
4	13,9	22,0	27,2	17,9	22,0	21,3	20,7	13,9 - 27,2	4,5
5	25,3	24,7	28,3	17,3	27,2	27,0	25,0	17,3 - 28,3	4,0
6	22,8	28,8	23,4	20,7	21,7	26,4	24,0	20,7 - 28,8	3,1
7	22,8	22,2	22,2	19,0	19,6	23,0	21,5	19,0 - 25,8	1,7
x̄	20,9	23,7	24,3	18,5	20,9	24,3			
min.	15,2	20,5	20,1	17,3	16,5	21,3			
max.	27,4	28,8	28,3	20,7	27,2	27,7			
s	4,7	3,1	2,9	1,2	3,2	2,6			

alle Konzentationsangaben in mg/ ml

Tab. 25: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei der Reifung von Wildschweintierkörpern (Mm. adductores)

Nr. / Alter / ♂ G/W	56 11 M ♀ W	19 8 M ♀ G	57 11 M ♂ W	15 12 M ♂ W	58 10 M ♀ G	38 10 M ♀ W	10 6 M ♀ W	11 6 M ♀ W	17 7 M ♂ G	13 8 M ♂ W	27 8 M ♂ W	26 8 M ♂ W	18 7 M ♀ G			
Tag														$\bar{x}$	min. - max.	s
0		-	23,0	-	38,7	-	33,4	28,5	42,0	-	-	-	28,3	32,3	23,0 - 42,0	7,1
1		42,0		34,8		-	34,2	29,1	33,4	47,9	17,7	39,9	29,5	34,3	17,7 - 47,9	8,8
2		39,7		31,2		43,1	34,0	32,9	31,0	41,0	22,4	34,0	31,4	34,1	22,4 - 43,1	12,4
3		37,4		30,0		29,6	38,6	33,8	33,6	42,8		35,7	28,9	34,5	28,9 - 38,6	4,6
4	17,7	35,2		27,9		39,1	30,4	33,4	35,0	40,1		31,5	28,5	31,9	17,7 - 40,1	6,4
5		36,7		30,6		35,0	32,7	32,9	28,9	38,4		25,8	23,4	31,6	23,4 - 38,4	5,0
6		35,5		30,8		36,1	37,8	33,6	33,6	36,1		33,1	25,5	33,6	25,5 - 37,8	3,7
7		28,9		28,8		32,9	33,4	32,3	26,0	27,5		28,3	29,3	29,7	26,0 - 33,4	2,6
$\bar{x}$		36,5		30,6		36,0	34,3	32,1	32,9	39,1		32,6	28,1			
min.		28,9		27,9		29,6	30,4	28,5	26,0	27,5		25,8	23,4			
max.		42,0		34,8		43,1	38,6	33,8	42,0	47,9		39,9	31,4			
s		4,1		2,2		4,7	2,7	2,1	4,7	6,3		4,7	2,5			

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

Tab. 26: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei der Reifung von Damwildtierkörpern (Mm. adductores)

Nr.	3	4	18	11	R6	R7	R8	9	10	R13			
Alter	18 M	18 M	11 M	18 M			18 M	18 M	18 M				
♂ G/W	♂ W	♂ G	♀ W	♀ G	- W	- W	♂ W	♂ W	♂ W	- W			
Tag											$\bar{x}$	min. - max.	s
0	23,4	29,6	42,4	40,3	35,5	30,8	54,5	40,5	39,7	30,4	36.7	23,4 - 54,5	8,8
1	24,3		36,5	23,6	25,3	37,6	31,0	35,3	23,4	26,8	29,3	23,4 - 37,6	5,9
2	29,1		34,2	39,3	25,5	32,7	43,3	32,3	25,5	30,4	32,5	25,5 - 43,3	5,9
3	31,0		30,2	32,5	30,6	34,2	32,1	31,2	32,9	31,0	31,7	31,0 - 34,2	1,3
4	34,8		34,4	33,3	32,7	33,8	28,1	30,0	27,2	28,9	31,5	27,2 - 34,8	2,9
5	35,0				36,1	37,8	37,8	28,7	23,9	32,7	33,1	23,9 - 37,8	5,2
6	31,9				33,4	36,3	38,2	33,1	31,9	35,3	34,3	31,9 - 38,2	2,4
7	33,3				31,2	33,1	35,2	30,4	30,0	24,1	31,0	24,1 - 33,3	3,6
$\bar{x}$	30,4		35,5	33,8	31,3	34,5	37,5	32,7	29,3	30,0			
min.	23,4		30,2	23,6	25,3	30,8	28,1	28,7	23,4	24,1			
max.	35,0		42,4	40,3	36,1	37,6	54,5	40,5	39,7	35,3			
s	4,5		4,5	6,7	4,1	2,5	8,4	3,8	5,5	3,4			

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

Tab. 27: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei der Reifung von Reh- und Rotwildtierkörpern (Mm. adductores)

REHWILD

Nr.	14	15	16	N1	N2	17	18			
Alter	10 J	2 J	1 J	10 J	1 J	2 J	4 J			
♂ G/W	♀ W	♀ W	♀ W	♀ W	♀ W	♀ W	♀ W			
Tag								$\bar{x}$	min. - max.	s
0	29,3		31,2	-	-	34,8	-	31,8	29,3 - 34,8	-
1	31,4		29,8	36,3	32,7	24,7	33,8	31,5	24,7 - 36,3	4,0
2	29,5		31,2	40,3	33,8	29,1	37,4	33,6	29,5 - 40,3	4,5
3	29,6	36,1	24,5	45,0	32,1	29,1	39,3	33,7	24,5 - 45,0	7,0
4				45,0	33,6	26,4	28,9	33,5	26,4 - 45,0	8,2
5				45,0	20,7	29,6	33,4	32,2	20,7 - 45,0	10,1
6				41,4	27,2	28,9	37,8	33,8	27,2 - 41,4	6,9
7				33,1	24,1	28,9	43,0	32,3	24,1 - 41,4	8,0
$\bar{x}$	30,0	-	29,2	40,9	29,2	28,9	36,2			
min.	29,3		24,5	33,1	20,7	24,7	28,9			
max.	31,4		31,2	45,0	33,6	34,8	43,0			
s	1,0		3,2	4,7	5,2	2,9	4,6			

ROTWILD

A1	N1
6 J	9 J
♀ G	♂ G
-	-
31,2	-
31,2	30,0
27,2	44,7
31,7	24,7
	32,9
	31,4
	33,3
30,3	32,8
27,2	24,7
31,7	44,7
2,1	6,6

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

Tab. 28: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei verschiedenen Muskelproben bei Rind und Hausschwein

RIND

Tier Nr.	Diaphragma Pars musc.	M. longissimus dorsi	Mm. adductores	Mm. rhomboidei
17	8,0	19,4	20,3	7,4
10	12,4	25,5	26,8	15,2
11	18,8	27,2	26,2	19,2
15	16,0	24,7	28,3	11,6
18	17,1	21,7	-	7,6
12	17,5	23,6	19,8	22,8
7	16,7	21,1	26,0	12,0
4	18,1	38,2	32,0	12,7
6	15,2	31,2	31,5	16,3
9	19,2	34,4	29,1	2,07
1	15,2	24,7	26,2	16,2
14	16,7	31,2	36,1	18,2
13	14,3	30,8	25,1	14,8
3	8,7	23,9	31,9	-
2	7,2	19,6	27,6	16,2
16	15,0	31,5	34,4	13,9
8	11,0	27,4	27,9	-
5	17,5	23,6	26,8	20,7
$\bar{x}$	14,7	26,7	28,0	15,3
min.	7,2	19,4	19,8	7,4
max.	19,7	34,4	36,1	22,8
s	3,7	5,3	4,3	4,4

HAUSSCHWEIN

Tier Nr.	Diaphragma Pars musc.	M. longissimus dorsi	Mm. adductores	Mm. rhomboidei
21	4,8	51,9	53,0	13,7
22	31,2	42,6	36,8	23,9
20	42,0	46,6	31,4	24,1
7	26,2	30,8	33,3	29,5
2	25,7	44,3	31,0	29,6
10	42,0	40,9	30,8	25,1
12	31,2	42,4	28,1	24,7
6	33,6	38,4	31,9	21,5
8	22,2	29,3	26,0	26,6
13	26,4	18,6	18,6	22,4
15	-	38,4	33,1	16,3
9	30,0	30,0	23,0	22,8
5	40,3	39,0	32,5	15,2
3	35,7	38,8	33,4	18,4
1	35,0	36,1	26,6	20,9
11	22,4	34,0	15,0	19,6
4	30,8	38,6	25,5	16,2
14	30,6	45,2	32,5	20,7
$\bar{x}$	30,0	38,1	30,1	21,7
min.	4,8	29,3	15,0	13,7
max.	42,0	51,9	53,0	29,6
s	8,9	7,7	8,0	4,6

alle Konzentrationsangaben in mg/ml

Tab. 29: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei verschiedenen Muskelproben bei Schwarz- und Rotwild

SCHWARZWILD Forstämter

Tier Nr.	Diaphragma Pars musc.	Mm. pectorales	Mm. adductores
1	-	-	32,9
2	30,4	-	38,0
3	16,9	21,7	19,8
4	33,8	-	40,3
5	13,9	29,6	33,3
6	43,5	53,8	56,8
7	42,0	32,3	39,7
8	29,3	17,1	31,7
14	26,4	35,0	32,3
17	42,0	38,0	50,2
18	37,1	51,1	57,8
19	25,7	21,9	48,8
$\bar{x}$	31,0	33,4	40,1
min.	13,9	17,1	19,8
max.	43,5	53,8	57,8
s	9,9	12,8	11,3

SCHWARZWILD Wildimportfirma

Tier Nr.	Diaphragma Pars musc.	Mm. pectorales
2	27,2	27,7
3	25,1	31,0
4	27,2	24,1
5	35,5	26,0
6	24,3	29,6
7	21,7	31,9
8.	22,0	29,5
$\bar{x}$	26,1	28,5
min.	21,7	24,1
max.	35,5	31,9
s	4,7	2,8

ROTWILD Wildimportfirma

Tier Nr.	Diaphragma Pars musc.	Mm. pectorales
1	44,7	50,7
2	38,2	37,1
3	46,7	38,4
4	49,0	19,4
5	32,1	21,3
6	28,9	25,1
7	17,3	19,2
8	32,7	47,9
$\bar{x}$	36,2	32,4
min.	17,3	19,2
max.	49,0	50,7
s	10,6	12,8

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

Tab. 30: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei verschiedenen Muskelproben beim Rehwild

REHWILD Forstämter

Tier Nr.	Diaphragma Pars musc.	Mm. pectorales	Mm. adductores
1	30,2	-	36,3
2	23,2	-	37,1
3	37,8	13,3	46,7
4	28,3	17,5	48,3
$\bar{x}$	29,9	15,4	42,1
min.	23,2	-	36,3
max.	30,2	-	48,3
s	6,1	-	6,3

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

REHWILD Wildimportfirma

Tier Nr.	Diaphragma Pars musc.	Mm. pectorales
1	18,6	24,3
2	25,8	29,3
3	30,6	30,0
4	11,8	26,6
5	-	29,3
6	27,0	27,7
77	35,0	27,2
8	44,0	24,7
14	35,7	37,2
15	46,0	29,5
16	44,0	32,3
17	21,7	-
18	25,7	-
$\bar{x}$	30,5	28,9
min.	11,8	24,3
max.	44,0	37,2
s	10,8	3,6

Tab. 31: Ergebnisse der Eiweißbestimmung in den Muskelextrakten mittels der Biuret - Methode (Leerwertkorrektur) bei verschieden alten Rinder- und Hausschweinschlachttierkörpern (Entnahmestelle: Mm. adductores)

RIND	KALB
28,50	25,46
18,43	24,70
34,96	27,55
31,16	33,44
33,25	34,77
29,26 $\bar{x}$	29,18

SCHWEIN	FERKEL
32,11	26,03
34,96	34,39
31,35	27,55
32,30	32,30
32,68 $\bar{x}$	30,07

alle Konzentrationsangaben in mg/ ml

K. LITERATURVERZEICHNIS[x]

Ali-Seid, N.

Überprüfung der Aussagekraft von derzeit gebräuchlichen Arbeitsverfahren zur Erfassung der Fleischqualität bei Rinderschlachttierkörpern aus einer Tiergruppe mit stressarmen Haltungs- und Transportbedingungen und einer Tiergruppe aus Normalschlachtungen

Vet.med. Diss. FU Berlin, 1983

Ashmore, C.R.

Phenotypic expression of muscle fiber types and some implications to meat quality

J. Anim. Sci. 38, 1157 - 1164 (1974)

Ashmore, C.R. u. L. Doerr

Comparative aspects of muscle fiber types in different species

Exp. Neurol. 31, 408 - 418 (1971)

Bader, R.

Enzymhistochemische, histochemische, histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Skelettmuskulatur gesunder, ausgemästeter Schweine der deutschen Landrasse in unterschiedlichen Haltungssystemen

Vet.med. Diss. FU Berlin, 1981

Barnard, R.J., Edgerton, V.R. u. Furukawa

Histochemical, biochemical, and contractile properties of red, white and intermediate fibers

Am. J. Physiol. 220, 410 - 414 (1971)

[x]Zeitschriftenabkürzung gemäß List of Journals indexed in Index Medicus, Bethesda, MD, Natl. Library of Medicine, 1983

Bartels, H.

Die Untersuchung der Schlachttiere und des Fleisches

Parey - Verlag, Berlin (1968)

Bass, A., Brdiczka, D., Eyer, P., Hofer, S. u. D. Pette

Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization

Eur. J. Biochem. 10, 198 - 206 (1969)

Behr, Ch. u. E. Greuel

Lebensmittelhygienische Aspekte bei der Wildbretgewinnung

Z. Jagdwissenschaft 23, 41 - 50 (1977)

Bendall, J.R. u. J. Wismer-Pedersen

Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle

J. Food Sci. 27, 144 - 157 (1962)

Berman, M.D.

Factors affecting the water retention of beef. V. Variation of the Zinc - containing enzymes

J. Food Sci. 26, 422 - 427 (1961)

Birkhardt, K, Chevalier, H.-J., Giese, W. u. H.-J. Reinhard

Akute Rückenmuskelnekrose und Belastungsmyopathie beim Schwein

Zentralbl. Veterinärmed. Beih. 18,(1972)

Bishop, R.

Current major application areas in electrofocussing

Sci. Tools 26, 2 - 8 (1979)

Blase, R.

Die Jägerprüfung

20. Auflage

Verlag Neumann - Neudamm, Melsungen 1977

Bosco, J.

Die Pökelung und Farbveränderung des Fleisches

Fleischwirtschaft 43, 416 - 422 (1963)

Buschmann, H.

Vergleichende elektrophoretische Untersuchungen über die Hämoglobinstruktur von Haus- und Wildschwein

Zentralbl. Veterinärmed. A, 11, 445 - 447 (1964)

Castillo, O., Lohmann, H. u. R. Diamond

Selection of molecular level in mammalian myoglobins

FEBS Lett. 96, 12 - 14 (1978)

Champion, A., Parsons, A.L. u. R.A. Lawrie

Note on differentiation of myofibrillar proteins

J. Sci. Food Agric. 21, 7 - 8 (1970)

Davis, C.E., Bracewell, A.J., Anderson, J.B. u. J.O. Reagan

Time temperature heating effect on biuret - positive water - extractable porcine and bovine muscle proteins

J. Food Protection 48, 215 - 220 (1985)

Denny - Brown, D.

zitiert nach Lawrie, R.A. (1970)

Dielschneider, U.

Untersuchungen zur pH - Wert - Entwicklung und ihrer möglichen Beziehung zum Ausblutungsgrad bei Rehfleisch

Vet.med. Diss. Justus - Liebig - Universität Gießen, 1985

Dlabka, A.

Einsetzbarkeit der Isoelektrofokussierung zur Tierartenidentifizierung aus frischem nativem Muskelfleisch

Tierärztl. Umschau 39, 343 (1984)

Dlabka, A.

Tierartendifferenzierung aus hitzesterilisiertem Fleisch mittels Isoelektrofokussierung und anschliessender Silberfärbung

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 98, 130 - 135 (1985)

El-Badawi, A.A. u. R. Hamm

Beziehung zwischen Enzymaktivität und Myoglobingehalt in der Muskulatur von Schlachttieren

Fleischwirtschaft 50, 966 - 967 (1970)

Fasold, H.

Die Struktur der Proteine

Verlag Chemie, Weinheim, Bergstrasse (1970)

Führling, D. u. Ch. Gersonde

Erfahrungen mit der isoelektrischen Fokussierung bei der Tierartenbestimmung

Lebensmittelchem. u. Gerichtl. Chem. 34, 135 -138 (1980)

Fujimaki, M. u. F.E. Deathergate

Chromatographic fractionation of sarcoplasmic proteins of beef skeletal muscle on ion - exchange cellulose

J. Food Sci. 29, 316 - 326 (1964)

Forss, D.A., Manley, T.R., Platt, M.P. u. V.J. Moose

Palatability of version from farmed and feral red deer

J. Sci. Food Agric. 30, 932 - 935 (1979)

Cissel, C.

Vergleichende Untersuchung am abgelagertem Frischfleisch verschiedener Tierarten über Veränderungen von Purinsubstanzen und Eiweißen und deren Bedeutung als hygienischer Parameter

Habil.Schr., Tierärztl. Hochschule Hannover, 1978

Grau, R.

Verhalten des Fleisches nach dem Schlachten

In: Tierische Lebensmittel
Handbuch der Lebensmittelchemie Bd. III/ 2

Hrsg.: Adler, L., Bergner, K.-G., Diemaier, W., Heimann, W., Kiermeier, F., Schormüller, J. u. S.W. Souci

Springer Verlag, Berlin (1968) S. 1076 - 1149

Hadlok, R.M. u. U. Dielschneider

Untersuchungen zum pH - Wert - Verlauf im Muskelfleisch von Rehwild, Vorläufige Mitteilung

Fleischwirtschaft 62, 898 - 899 (1982)

Häußermann, E.

Prüfung von Schnellmethoden zur Erkennung abweichender Fleischqualität beim Schwein bei der amtlichen tierärztlichen Fleischuntersuchung

Vet.med. Diss. FU Berlin, 1985

Hamm, R.

Kolloidchemie des Fleisches

Parey Verlag, Berlin (1972)

Hamm, R.

Die Biochemie des Muskel - Calciums und ihre Bedeutung für die Fleischqualität
Teil I und II

Fleischwirtschaft 59, 393 - 398 und 561 - 565 (1979)

Hamm, R.

Struktur und Funktion des Muskels

Fleischwirtschaft 61, 1822 - 1829 (1981)

Hammond, J.

Growth and development of mutton qualities in the sheep

Oliver and Boyd, London (1932)

Heinert, H.H. u. A. Klinger

Tierartspezifische Eiweißdifferenzierung
Polyacrylamidgelelektrophorese zum Nachweis der Tierart

Fleischwirtschaft 58, 1490 - 1491 (1978)

Heinert, H.H. u. A. Klinger

Tierartspezifische Eiweißdifferenzierung
Protein- und Enzymmuster bei Reh (Capreolus capreolus) und Hirsch (Cervus elaphus)

Fleischwirtschaft 60, 1682 - 1683 (1980)

Heinz, G. u. H. Winter

Produktion von Wildfleisch durch Einflußnahme auf Zucht und Haltung

Fleischwirtschaft 63, 1691 - 1698 (1983)

Helander (1957)

zitiert nach Grau, R. (1968)

Hofmann, K.

Chemie der Eiweißstoffe

Fleischwirtschaft 62, 1432 - 1437 (1982)

Hofmann, K.

Eine neue Möglichkeit der Tierartenidentifizierung bei Fleisch

Mitteilungsblätter der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, 1985, S. 6465 - 6469

Huxley, H.E. u. J. Hanson

The structure and function of muscle

ed. by. G.H. Bourne
vol. 1
Academic Press, New York (1960)

Kaiser, K.P., Matheis, G., Kmita - Dürrmann, Ch. u. H.-D. Belitz

Identifizierung der Tierart bei Fleisch, Fisch und abgeleiteten Produkten durch Proteindifferenzierung mit elektrophoretischen Methoden
I. Rohes Fleisch

Z. Lebensm. Unters. Forsch. 170, 334 - 346 (1980)

Karlson, P.

Kurzes Lehrbuch der Biochemie

12. Auflage
Thieme Verlag, Stuttgart (1984)

Kirchhoff, E. u. Rubach

Differenzierung der Proteinfraktionen von Lebensmitteln pflanzlicher und tierischer Herkunft

Lebensmittelchem. u. Gerichtl. Chem. 34, 24 - 34 (1980)

Kniewallner, K.

Über den Keimgehalt von handelsüblichem Wildfleisch

Arch. f. Lebensmittelhyg. 20, 64 - 65 (1969)

König, M.J.

Untersuchung von Muskelproteinen mit Hilfe der Elektrophorese und Fokussierung zur Differenzierung von Haus- und Wildschwein

Vet.med. Diss. Tierärztl. Hochschule Hannover, 1982

Kolb, E.

Lehrbuch der Physiologie der Haustiere

4. Auflage
G. Fischer Verlag, Stuttgart (1980)

Krause, I. u. H.-D. Belitz

Differenzierung von Milchproteinen verschiedener Tierarten: Nachweis von Kuhmilch in Schaf-, Ziegen- und Büffelmilch bzw. -käse

Lebensmittelchem. Gerichtl. Chemie 39, 29 - 46 (1985)

Kronmann, M.J., Weinberger, L.E. u. R.J. Winterbottom

The water - soluble proteins of bovine skeletal muscle

Arch. Biochem. Biophys. 86, 238 - 250 (1960)

Kühnl, P.

Elektrofokussierung in der forensischen Serologie

LKB Produktinformation, Gräfelfing (1979)

Kumaratilake, L.M. u. R.C.A. Thompson

A standardized technique for the comparison of tapeworm soluble proteins by thin - layer isoelectric focussing in polyacrylamide gel, with particular reference to Echinococcus granulosus

Sci. Tools 26, 21 - 24 (1979)

Lawrie, R.A.

Fleischkunde

BLV Verlagsgesellschaft München (1970)

Lawrie, R.A., Pomeroy, W. u. A. Cuthbertson

Studies on the muscles of meat animals
3. Comparative composition of various muscles in pigs of three weight groups

J. Agric. Sci. 60, 195 - 209 (1963)

Lehmann (1904)

zitiert nach Lawrie, R.A. (1970)

Lehninger, A.L.

Biochemie

2. Auflage
Verlag Chemie, Weinheim, New York (1979)

LENZE, W.

Fleischhygienische Untersuchungen an Rehwild. Einfluß von Gesundheitszustand, Herkunft, Erlegungs- und Versorgungsmodalitäten auf Keimgehalt und pH - Wert

Vet. med. Diss. Ludwig - Maximilians - Universität München (1977)

Lindholm, A. u. K. Piehl

Fibre composition, enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscles of standardbred horses

Acta Vet. Scand. 15, 287 - 309 (1974)

Malamud, D. u. J.W. Drysdale

Isoelectric points of proteins: a table

Anal. Biochem. 86, 620 - 647 (1978)

Neuhoff, V.

Moderne Mikromethoden für die Biologie und Medizin

G-I-T Fachzeitschrift für das Laboratorium 28, 650 - 666 (1984)

Neumann, G.

Analytische Elektrofokussierung

G-I-T Fachzeitschrift für das Laboratorium 20, 1212 - 1217 (1976)

Pattengale, P.K. u. J.O. Holloszy

Augmentation of skeletal muscle myoglobin by a program of treadmill running

Am. J. Physiol. 213, 783 - 785 (1967)

Penny, I.F.

Conditioning of bovine muscle
I. Composition of the proteins of the myofibril
II. Changes in the composition of extracts of myofibrils after conditioning

J. Sci. Food. Agric. 21, 297 - 306 (1970)

Persson, S., Lindholm, A., Jönsson, L. u. H. André

Some parameters related to the aerobic capacity in trained, untrained and Halotthane sensitive pigs.

Acta Agric. Scand. Suppl. 21, 365 - 375 (1979)

Perry, S.V.

Biochemical adaption during development and growth in skeletal muscle

In: The physiology and biochemistry of muscle as food
Ed. by. Briskey, E.J., Cassens, R.G. u. B.B. Marsh

Madison: University of Wisconsin Press, S. 537 - 553 (1970)

Petrides, P.E.

Aminosäuren und Poly - Aminosäuren (Proteine)

In: Physiologische Chemie
Hrsg. v.: Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss, L. u. H.A. Harper

2. Auflage
Springer Verlag, Berlin (1979)

Petrides, P.E.

Blut

In: Physiologische Chemie
Hrsg. v.: Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss, L. u. H.A. Harper

2. Auflage
Springer Verlag, Berlin (1979)

Petrides, P.E. u. G. Löffler

Muskelgewebe

In: Physiologische Chemie
Hrsg. v.: Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss, L. u. H.A. Harper

2. Auflage
Springer Verlag, Berlin (1979)

Plein, K.

Untersuchungen zum Einsatz der isoelektrischen Fokussierung auf Polyacrylamidgel (PAGIF) in der Fleischhygiene

Vet. med. Diss. Justus - Liebig - Universität Gießen (1984)

Protz, D.

Methoden zur Tierartenbestimmung aus Fleisch und Fleischerzeugnissen

Rev. sci. techn. Off. int. Epiz. 2, 87 - 91 (1983)

Protz, D.

Tierartendifferenzierung mittels der isoelektrischen Fokussierung auf Polyacrylamidgelen (PAGIF)

"Entwicklungen in der Fleischhygiene mit Demonstration neuer Untersuchungsverfahren"

Demonstrationsveranstaltung Bundesgesundheitsamt, 15. Juli 1984

Reiff, F. u. F. Bauer

Qualitätsuntersuchung am Wildbret.

Z. Fleischbeschau u. Lebensmittelkontrolle 2, 4 - 7(1976)

Reincken, G.

Damtierhaltung

Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (1980)

Reuter, G.

Verfahren zur Erkennung von Fleischqualitätsabweichungen bei Schlachttierkörpern

Fleischwirtschaft 62, 1153 - 1160 (1982)

Reuter, G.

Die Problematik mikrobiologischer Normen bei Fleisch

Arch. f. Lebensmittelhyg. 95, 97 - 109 (1984)

Riemer, R. u. G. Reuter

Untersuchungen über die Notwendigkeit und Durchführbarkeit einer Wildfleischuntersuchung bei im Inland erlegtem Rot- und Rehwild - zugleich eine Erhebung über die substantielle Beschaffenheit und die Mikroflora von frischem Wildfleisch

Fleischwirtschaft 59, 857 - 864 (1979)

Righetti, P.G. u. T. Caravaggio

Isoelectric points and molecular weights of proteins. A table

J. Chromatogr. 127, 1 - 28 (1976)

Roth, B.

Zusammenhänge zwischen polymorphen Milchproteinen und den Erstlaktationsleistungen innerhalb Töchtergruppen schwarzbunter Bullen

Vet.med. Diss. Tierärztl. Hochschule Hannover, 1982

Rubach, K., Kirchhoff, E. u. Ch. Breyer

Dünnschicht - Elektrofokussierung in Polyacrylamid zur Bestimmung der Tierart durch Proteindifferenzierung

LKB Produktinformation, Gräfelfing (1978)

Salomon, F.-V., Michel, G., Salomon, B. u. F. Gruschwitz

Zur Fasertypisierung an Skelettmuskeln

Monatsh. Veterinärmed. 36, 349 - 353 (1981)

Scopes, R.K.

zitiert nach Lawrie, R.A. (1970)

Sinclair, A.J. u. W.J. Slattery

Identification of meat according to species by isoelectric focussing

Austr. Vet. J. 58, 79 - 80 (1982)

Spell, E.

Die elektrophoretische Unterscheidung verschiedener Fleischarten

Fleischwirtschaft 54, 533 - 538 (1974)

Spöttel, W.

Der Fett-, Protein- und Aschegehalt der Muskulatur wachsender Ziegen und Milchschafe und ihre Bedeutung

Biedermanns Zentralbl. B. 15, 127 - 174 (1943)

Stolle, A, Troeger, K. u. G. Reuter

Isoelektrische Fokussierung in Polyacrylamidgel Zur Erkennung von Veränderungen im Proteinmuster unzulässig gewonnenen Schweinefleisches (Scheinschlachtungen) unter Berücksichtigung unterschiedlicher Reifungsstadien

Fleischwirtschaft 63, 1315 - 1319 (1983)

Svensson, H.

Isoelectric fractionation, analysis and characterization of ampholytes in natural pH gradients. III. Description of apparatus for electrolytes in columns stabilized by density gradients and direct determination of isoelectric points

Arch. Biochem. Biophys., Suppl. 1, 132 - 138 (1962)

Van Den Hende, L., Muylle, E. u. W. Oyaert

Enzyme activities of liver, heart and skeletal muscles of the pig

Zentralbl. Veterinärmed. A 15, 135 - 142 (1967)

v. Decken, J.G.

Zur Frage der landwirtschaftlichen Damhaltung in Schleswig - Holstein

Wild im Gehege 1, 8 (1982)

Wilson, G.D., Ginger, J.D. u. B.S. Schweigert

A study of the variations of myoglobin concentration in "two - toned" hams

J. Anim. Sci. 18, 1080 - 1086 (1959)

Wykle, B., Gillett, T.A. u. P.B. Addis

Myoglobin heterogenity in pigs with PSE and normal muscle by an improved isoelectric focussing technique

J. Anim. Sci. 47, 1260 - 1264 (1978)

Young, O.A., Graafhuis, A.E. u. C.L. Davey

Post - mortem changes in cytoskeletal proteins of muscle

Meat Science 5, 41 - 55 (1980 - 81)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. G. Reuter möchte ich für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gewährte Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit herzlich danken.

Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. K. Rubach, Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Berlin, und Herrn Dr. D. Führling, Landesanstalt für Lebensmittel, Arzneimittel und gerichtliche Chemie Berlin, für die wertvollen Anregungen zu Dank verpflichtet.

Für die Erlaubnis der Probenahme danke ich den Leitern der Forstämter Berlin - Spandau und - Grunewald sowie der Firma Emil Roloff.

Herrn Leinen danke ich für die Anfertigung der Fotos.

Ferner danke ich allen Mitarbeitern des Instituts für Fleischhygiene, die mir bei der Fertigstellung dieser Arbeit behilflich waren. Darüberhinaus möchte ich Herrn Dr. M. Bülte für viele wertvolle Hinweise und Diskussionen danken.

LEBENSLAUF

Name: Wolfgang Naujok

Geburtsdatum: 11.10.1958 als erstes von 2 Kindern des Bauingenieurs Helmut Naujok und seiner Frau Gisela, geb. Vits, in Mönchengladbach

Ausbildung: 1965 - 1968 Grundschule in Rheydt
1968 - 1977 Oberschule in Rheydt
Abitur: 3.6.1977 am Hugo - Junkers - Gymnasium in Mönchengladbach - Rheydt

1977 - 1978 Kaufmännische Schule in Mönchengladbach - Rheydt (Höherer Handel)

Studium: 1978 - 1983 Tiermedizin an der Freien Universität Berlin
Tierärztliche Prüfung: 20.7.1983

Approbation: 5.8.1983

Juli - November 1983 Mitarbeiter an der Klinik für kleine Haustiere

seit September 1983 Doktorand bei Prof. Dr. Reuter

6.2. - 31.12.1984 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Fleischhygiene der WE Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie an der FU Berlin

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen